

**Somatostatinrezeptoren und Neuroendokrine
Tumore:**

**Molekulare Bildgebung mittels PET/CT und
Korrelation zur Immunhistochemie**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Luisa Peter, geb. Goetze
geboren am 16.05.1985 in Zwenkau

Gutachter

1:

2:

3:

Tag der öffentlichen Verteidigung:

Abkürzungsverzeichnis

Abk.	Erklärung
5-HIES	5-Hydroxyindolessigsäure
5-J-ÜLR	5-Jahres-Überlebensrate
APUD	Amine Precursor Uptake and Decarboxylation
BMI	Body-Mass-Index
CDX2	Caudal type homebox transcription factor 2
CgA	Chromogranin A
CT	Computer-Tomographie
⁶⁴ Cu	⁶⁴ Kupfer
CUP	„Cancer of unknown primary“ – Karzinom mit unbekanntem Primum
DOTA-NOC	DOTA-1-Nal ³ -octreotide
DOTA-TOC	1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid
DOTA-TATE	DOTA-D-Phe ¹ -Tyr ¹ -Thr ¹ -octreotide
DTPA	Diäthylen-triamin-penta-essigsäure
EANM	European Association of Nuclear Medicine
ENETS	European Neuroendocrine Tumour Society
¹⁸ F	¹⁸ Fluor
FDG	Fluor-Deoxy-Glukose
⁶⁸ Ga	⁶⁸ Gallium
⁶⁸ Ge	⁶⁸ Germanium
GEP-NET	Gastro-entero-pankreatische neuroendokrine Tumore
HACE	Hepatische arterielle Chemoembolisation
HAE	Hepatische arterielle Embolisation
HE	Hämatoxylin-Eosin
Her2/neu-Score	Herceptin-Test Score
¹¹¹ In	¹¹¹ Indium
IOUS	Intraoperativer Ultraschall
IRS	Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner
Ki-67	Proliferationsindex
LAR-Octreotid	Long-Acting-Release-Octreotid
¹⁷⁷ Lu	¹⁷⁷ Lutetium
MEN 1	Multiple endokrine Neoplasie Typ 1
MRA	Magnetresonanz-Angiographie

MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MTD	Molekularer Tumordurchmesser
MTV	Molekulares Tumolvolumen ($MTV = SUV \times MTD$)
NCAM	Neural cell adhesion molecule
NEK	Neuroendokrines Karzinom
NET	Neuroendokrine Tumore
NSE	Neuronenspezifische Enolase
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PET/CT	Positronen-Emissions-Tomographie/Computer-Tomographie
Phe ¹	Phenylalanin
p. i.	post injectionem
PP	pankreatisches Polypeptid
PRRT	Peptidrezeptor-vermittelte Radionuklidtherapie
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
RSA	Rinderserumalbumin
s. c.	subkutan
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results program
SIRT	Selektive interne Radiotherapie
SMS-Analoga	Somatostatin-Analoga
SMS-R-PET/CT	Somatostatinrezeptor-PET/CT
SNM	Society of Nuclear Medicine
SPECT	Single-Photon-Emissions-Computer-Tomographie
SRS	Somatostatin-Rezeptor-Szintigraphie
SST	Somatostatin
SSTR	Somatostatin-Rezeptor
SUV_{max}	Standardized Uptake Value (Maximum)
SUV_{mean}	Standardized Uptake Value (Mittelwert)
^{99m}Tc	^{99m}Tc Technetium
Thr	Threonin
TTF-1	Thyroidaler Transkriptionsfaktor 2
Tyr	Tyrosin
UMB-1	Antikörper zum Nachweis von SSTR 2A
VIP	Vasoaktives intestinales Polypeptid
WHO	World Health Organization
^{90}Y	^{90}Y trium

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
2.1	Gastroenteropankreatische neuroendokrine Tumore (GEP-NET)	3
2.1.1	Definition und Klassifikation	3
2.1.2	Historische Entwicklung	6
2.1.3	Epidemiologie, Lokalisation und Prognose	7
2.1.4	Klinik	8
2.1.5	Diagnostik	9
2.1.5.1	Laborchemische Diagnostik	9
2.1.5.2	Histopathologie	10
2.1.5.3	Immunhistochemie	11
2.1.5.4	Bildgebung	12
2.1.6	Therapieprinzipien	15
2.1.6.1	Chirurgische Therapie	17
2.1.6.2	Biotherapie	18
2.1.6.3	Chemotherapie	19
2.1.6.4	Strahlentherapie	19
2.1.6.5	Embolisation/ Chemoembolisation	20
2.1.6.6	Radiopeptidtherapie	20
2.2	Somatostatinrezeptoren (SSTR)	21
2.2.1	Somatostatin	21
2.2.2	Somatostatinrezeptor-Subtypen	21
2.2.3	Vorkommen	22
2.2.4	Nachweismethoden	23
2.2.5	SSTR in GEP-NET	23
2.3	Nuklearmedizinische Methoden	25
2.3.1	Somatostatinanaloga	25
2.3.2	Somatostatinrezeptorszintigraphie	27
2.3.3	Somatostatin-Rezeptor-PET/CT	27
2.3.4	Nuklearmedizinische Therapieprinzipien - PRRT	29

3	Ziele der Arbeit	32
4	Methodik	33
4.1	Materialien und Substanzen	33
4.1.1	Substanzen zur Immunhistochemie	33
4.1.2	Geräte und sonstige Materialien	34
4.1.3	Lösungen und Standardpuffer	34
4.2	Anfertigung der Gewebeschnitte	35
4.3	Immunhistochemie	35
4.3.1	Darstellung der Methode	35
4.3.2	Durchführung	37
4.4	Übersichtsfärbung mit Hämatoxylin-Eosin	39
4.5	Auswertung	40
4.5.1	Immunhistochemie	40
4.5.2	Molekulare Bildgebung (PET/CT)	42
4.5.3	Klinische Angaben	42
4.5.4	Fehlerbetrachtung	43
5	Ergebnisse	44
5.1	Allgemeine Patientendaten	44
5.2	Klinische Daten	45
5.2.1	Tumorlokalisation	45
5.2.2	Klassifikation	46
5.2.3	Grading	47
5.2.4	Funktioneller Status	47
5.2.5	Karnofsky-Performance-Score	48
5.3	Immunhistochemie	48
5.3.1	Chromogranin- und Synaptophysinfärbung	48
5.3.2	Ki-67-Index	49
5.3.3	Lichtmikroskopische Auswertung	49
5.3.4	SSTR-Expressionsmuster	50
5.3.5	Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen	52
5.4	Molekulare Bildgebung mittels Rezeptor-PET/CT	61
5.5	Korrelationen	61
5.5.1	Immunhistochemie und klinische Angaben	62
5.5.2	Größenangaben in Pathologie-Befund, CT und PET/CT	65
5.5.3	Immunhistochemie und PET/CT	66

6 Diskussion	71
6.1 Häufigkeiten der SSTR-Subtypen	71
6.2 Expressionsmuster der SSTR-Subtypen	73
6.3 Vergleich der Scores	74
6.4 Korrelation zwischen den Expressionsintensitäten der SSTR-Subtypen .	76
6.5 Chromogranin- und Synaptophysinfärbung	77
6.6 Tumorlokalisation	78
6.7 Grading	78
6.8 Funktioneller Status	79
6.9 SSTR-Status und PET/CT-Parameter	80
7 Schlussfolgerungen	82
Literaturverzeichnis	84
Anhang	VIII

1 Zusammenfassung

Seit Mitte der 1980er Jahre ist bekannt, dass gastroenteropankreatische neuroendokrine Tumore (GEP-NET) Somatostatinrezeptoren (SSTR) überexprimieren. Die Somatostatin-Rezeptor-PET/CT mit ^{68}Ga -markierten Somatostatinanaloga (SMS-R-PET/CT) gilt heute als Goldstandard zur Diagnostik von GEP-NET. Die dafür genutzte Rezeptorüberexpression ist mittlerweile nicht nur wichtiger Bestandteil der Diagnostik, sondern stellt auch die Grundlage in der symptomatischen und kurativen Therapie dieser Tumorentitäten dar, z.B. mittels Octreotid und/oder radioaktiv markierter Somatostatinanaloga (SMS-Analoga). Mit der Entwicklung von spezifischen Antikörpern für den immunhistochemischen Nachweis von SSTR steht eine Methode zur Verfügung, die eine in vitro-Evaluation der Patienten mit GEP-NET vor einer in vivo-Therapie ermöglicht.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten die Frage klären, ob eine Korrelation besteht zwischen der im SMS-R-PET/CT anhand von Standardized Uptake Values (SUV) gemessenen SSTR-Dichte auf GEP-NET und/oder deren Metastasen und der danach immunhistochemisch an operativ gewonnenem Tumorgewebe bestimmten Intensität der Expression der fünf SSTR-Subtypen. Hierzu erfolgte eine genaue immunhistochemische Quantifizierung der SSTR-Verteilung aller fünf SSTR-Subtypen auf neuroendokrinem Tumorgewebe. Zukünftig könnte damit eine Aussage zur Wahrscheinlichkeit des Ansprechens auf eine Therapie mit SMS-Analoga ermöglicht und ein Bezug zur Darstellung im SMS-R-PET/CT hergestellt werden. Weiterhin wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen klinischen bzw. histopathologischen Merkmalen von GEP-NET und dem SSTR-Status besteht. Aufgrund der Verwendung von unterschiedlichen immunhistochemischen Scores für die Bewertung der Tumorpräparate, war eine zusätzliche Zielsetzung der Arbeit, die Zuverlässigkeit der verwendeten Scores (IRS und Her2/neu) zu überprüfen.

Bei 34 Patienten mit histologisch nachgewiesenen GEP-NET wurden 44 verschiedene Tumorproben mit spezifischen Antikörpern auf SSTR1 - 5 immunhistochemisch untersucht und quantitativ mittels Her2-Score sowie dem Immunreaktiven Score nach Remmele und Stegner (IRS) ausgewertet. In 26 Fällen war eine exakte Übereinstimmung der Tumorlokalisation auf den präoperativ mit ^{68}Ga -DOTANOC bzw. -DOTATATE erfolgten SMS-R-PET/CT-Scans und dem Operationspräparat nachvollziehbar. Unter

Berücksichtigung des Partialvolumeneffektes für Läsionen kleiner als 15 mm, konnten für die Berechnung von maximalen SUV (SUV_{max}) 14 Fälle und für mittlere SUV (SUV_{mean}), MTD (= molekularer Tumordurchmesser) und MTV (= molekulares Tumolvolumen) 13 Fälle der mit ^{68}Ga -DOTANOC erfolgten PET/CT-Scans einbezogen werden.

Die Höhe des IRS für den SSTR 2A korrelierte hochsignifikant ($p < 0,001$) mit SUV_{max} und SUV_{mean} ($p < 0,01$). Auch für den SSTR 5 konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Höhe des IRS und SUV_{max} ($p < 0,05$) gezeigt werden. Bei der Verwendung des Her2-Scores ergab sich dagegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen den in vitro- und in vivo-Ergebnissen. Die Höhe des SSTR2A-IRS-Scores korrelierte auch mit der Stärke der Chromograninfärbung und zeigte einen inversen Zusammenhang zum Grading. SSTR 2A und 3 dominierten in den Tumorproben mit einer Häufigkeit zwischen 70% und 88%. Die Inzidenz der Subtypen 1, 4 und 5 lag zwischen 45% und 55%; weniger als 5% waren negativ für alle SSTR-Subtypen. Außerdem konnte ein positiver Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein der SSTR-Subtypen 1 und 4, 1 und 5 sowie 4 und 5 nachgewiesen werden. Zwischen IRS-Klassifikation und Her2-Score fand sich nur eine mäßige Korrelation von 0,4-0,6 (ausgenommen SSTR 5). Der IRS war dabei zuverlässiger für die immunhistochemische Bewertung von GEP-NET, da er auch der Heterogenität der zytoplasmatischen Färbung der Subtypen 1 und 3-5 gerecht wurde.

In der vorliegenden Arbeit wurden erstmalig alle fünf immunhistochemisch charakterisierten SSTR-Subtypen mit SUV-Bestimmungen im SMS-R-PET/CT korreliert. Der immunhistochemische Nachweis könnte künftig sowohl für die Indikationsstellung zur Durchführung einer Rezeptor-PET/CT, als auch für die patientenindividuelle Auswahl des optimalen Peptids – insbesondere hinsichtlich einer Radiorezeptorthherapie – Bedeutung erlangen. Mit über 15 verschiedenen SSTR-Konstellationen konnte ein individuelles SSTR-Expressionsmuster von GEP-NET mit variabler Dichte und Intensität nachgewiesen und ein Zusammenhang zwischen den Subtypen 1 und 4, 1 und 5 bzw. 4 und 5 dargestellt werden. Die hohe Inzidenz aller Subtypen rückt deren Bedeutung für die Entwicklung spezifischer Therapien weiter in den Vordergrund. Dabei war der IRS dem Her2-Score für die immunhistochemische Auswertung eindeutig überlegen und sollte künftig als Standard verwendet werden. Weiterhin wurde gezeigt, dass der Differenzierungsgrad Einfluss auf den SSTR 2A-Status eines Tumors hat. Damit bestätigt sich die Vermutung, dass der Verlust der SSTR-Expression einen Wachstumsvorteil für Tumore darstellt.

2 Einleitung

2.1 Gastroenteropankreatische neuroendokrine Tumore

2.1.1 Definition und Klassifikation

Neuroendokrine Tumore (NET) des Gastrointestinaltrakts stellen eine sehr heterogene Gruppe von Neoplasien dar, die von endokrinen Zellen abstammen und durch die Fähigkeit zur Hormonproduktion und durch spezifische histologische Eigenschaften gekennzeichnet sind (Creutzfeldt 1996, Rufini et al. 2006, Baum 2007).

Nach Tiling et al. (2002) erfolgt heute eine Einteilung der NET nach folgenden Kriterien:

- Primärlokalisation,
- Funktionalität, Hormonaktivität,
- Ausmaß der Tumorausbreitung,
- Differenzierung und dem damit verbundenen Proliferationsvermögen,
- Erbgang (sporadisch vs. hereditär/MEN 1).

Bis zur aktuellen Klassifikation der WHO im Jahr 2000 hatte der bis dahin gültige Begriff *Karzinoid* jedoch wie kein anderer in der Geschichte für Verwirrung gesorgt.

Schon 1907 führte der Pathologe Siegfried Oberndorfer diesen Begriff ein und legte anhand von sechs Patientenbeschreibungen mit insgesamt zwölf Läsionen der Submukosa des Dünndarms fünf charakteristische Eigenschaften der Karzinoide fest: (1) klein und oft multipel vorkommend, (2) umgeben von undifferenziertem Gewebe, vermutlich Drüsen nachahmend, (3) Potential zur Invasivität, (4) keine Metastasierung (5) sehr langsames Wachstum, ohne eine bedeutsame Größe zu erreichen und deshalb harmloser Natur (Oberndorfer 1907).

Seitdem sind über 100 Jahre vergangen und viele Autoren haben den Begriff v.a. wegen der Tendenz zur Metastasierung mittlerweile als „unglücklich“, „irreführend und unsicher“, „altmodisch“, „archaisch“ und „irritierend“ bezeichnet (Soga 2009). Nicht nur die von Oberndorfer charakterisierten Eigenschaften gelten heute als veraltet, sondern

auch die damalige ausschließliche Beschreibung der Tumore im Dünndarm ist durch den heutigen Kenntnisstand nicht mehr zeitgemäß. Bis es allgemein akzeptiert war, dass alle Karzinoide ein malignes Potential haben (Klöppel 2007a), zogen sich Diskussionen um Benignität und Malignität durch das gesamte 20. Jh.

Schon 1963 stellten Williams und Sandler die erste Klassifikation der Karzinoide vor (s. Tab. 2.1), die sich allein an der embryologischen Herkunft der Tumore orientierte: Vorderdarm, Mitteldarm, Hinterdarm (Williams und Sandler 1963). Da aus dieser Klassifikation jedoch nicht auf ein einheitliches biologisches Verhalten hinsichtlich Hormonproduktion, Klinik und Wachstum geschlossen werden konnte, hat sie sich in der Routinediagnostik nicht durchgesetzt (Arnold 1997).

Ursprung	Organ
Vorderdarm	Bronchialsystem, Ösophagus, Magen, Duodenum, Pankreas, prox. Jejunum
Mitteldarm	distales Jejunum, Ileum, Appendix, Zökum
Enddarm	Kolon, Rektum

(modifiziert nach Williams und Sandler 1963)

Tabelle 2.1: Klassifikation der GEP-NET nach embryologischer Herkunft

Als die morphologische Unterschiedlichkeit der Karzinoide immer deutlicher wurde, führten Soga und Tazawa 1971 eine histologische Klassifikation ein, die morphologische Kriterien in den Mittelpunkt stellte und die Tumore nach ihrem Wachstumsschema einteilte (Soga und Tazawa 1971): insulär, trabekulär, glandulär, gemischt oder undifferenziert.

1980 schlug die WHO eine Einteilung vor, die sich an der Vorstellung orientierte, dass *Karzinoide* Tumore des diffusen neuroendokrinen Systems des Gastrointestinaltrakts sind. Dementsprechend fielen Tumore wie das medulläre Schilddrüsenkarzinom, das kleinzellige Bronchialkarzinom oder Tumore des endokrinen Pankreas nicht mehr unter den Karzinoidbegriff.

Im Jahr 2000 einigte man sich dann auf den umfassenderen Begriff des *Neuroendokrinen Tumors*, der als gut differenziertes NET dem Karzinoid und als gut differenziertes neuroendokrines Karzinom (NEK) dem malignen Karzinoid gleichgesetzt werden kann (s. Tab. 2.2). Im Gegensatz zu allen anderen vorhergehenden Einteilungen, gestattet diese nun eine Aussage zur funktionellen und prognostischen Einordnung der Tumore (Klöppel 2003).

Außerdem hat sich eine klinische Einteilung je nach Vorliegen eines Hypersekretionssyndroms in *funktionell* und *nicht-funktionell* bewährt.

	Differenzierung	Dignität
1a	hoch differenzierter neuroendokriner Tumor = Karzinoid	benigne
1b	hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom = malignes Karzinoid	maligne
2	niedrig differenziertes neuroendokrines Karzinom	hoch maligne

(modifiziert nach Klöppel et al. 2004)

Tabelle 2.2: Klassifikation der GEP-NET anhand der Dignität

In einem zweiten Schritt wurde – auf dieser Einteilung aufbauend – noch einmal eine Spezifizierung nach Lokalisation und Biologie der Tumore vorgenommen, um auch der Prognose Rechnung tragen zu können. Hinsichtlich der Lokalisation erfolgte eine Unterscheidung zwischen Magen, Duodenum (und proximales Jejunum), Ileum (einschließlich distales Jejunum), Appendix, Kolon-Rektum und Pankreas. Als biologische Kriterien wurden Tumorgöße, Angioinvasion und proliferative Aktivität in Ergänzung zur histologischen Differenzierung, Vorhandensein von Metastasen und Organinvasion hinzugezogen. Außerdem wurde die hormonelle Aktivität und die Assoziation mit bestimmten klinischen Syndromen berücksichtigt. In Tabelle 2.3 ist ein Beispiel für die WHO-Klassifikation der NET des Ileum, Zökum, Kolon und Rektum aufgeführt.

1. Hoch differenzierter neuroendokriner Tumor (Karzinoid)
 - benignes Verhalten: funktionell inaktiv, beschränkt auf Mukosa/Submukosa, nicht angioinvasiv, Größe $\leq 1\text{cm}$ (Dünndarm) bzw. $\leq 2\text{cm}$ (Kolon/Rektum)
 - Serotoninpositiver Tumor
 - Enteroglukagonpositiver Tumor
 - benignes oder niedrig malignes Verhalten (fragliche Dignität): funktionell inaktiv, beschränkt auf Mukosa/Submukosa, angioinvasiv oder Größe $< 1\text{cm}$ (Dünndarm) bzw. $< 2\text{cm}$ (Kolon/Rektum)
 - Serotoninpositiver Tumor
 - Enteroglukagonpositiver Tumor
2. Hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom (malignes Karzinoid)
 - niedrig malignes Verhalten: Invasion der Lamina muscularis propria oder darüber hinaus, oder Metastasen
 - funktionell inaktives oder aktives (Karzinoidsyndrom) serotoninpositives Karzinom
 - funktionell inaktives enteroglukagonpositives Karzinom
3. Niedrig differenziertes neuroendokrines Karzinom
 - hoch malignes Verhalten

(modifiziert nach Klöppel 2003)

Tabelle 2.3: Klassifikation der NET des Ileum, Zökum, Kolon und Rektum

2.1.2 Historische Entwicklung

*„Karzinoide sind sicherlich häufiger,
als uns Berichte in der Literatur vermuten lassen.
Diese Tumore sind sicher nicht so selten.
Ich bin überzeugt, dass ihre Zahl schnell ansteigen wird,
wenn ihnen in der Zukunft mehr Aufmerksamkeit geschenkt wird.“*
(Oberndorfer 1907)

Der Pionier der neuroendokrinen Tumore Siegfried Oberndorfer (1876-1944)

Erste Beschreibungen neuroendokriner Tumore lassen sich bis ins 19. Jh. zurückverfolgen. T. Langhans (1839-1915), O. Lubarsch (1860-1933) und W.B. Ransom (1860-1903) erkannten schon Ende des 19. Jh. bei Autopsien die ungewöhnliche Morphologie der Tumore (Langhans 1867, Lubarsch 1888, Ransom 1890, Modlin et al. 2007). Aber erst Siegfried Oberndorfer beschrieb sie 1907 in seiner Veröffentlichung in der *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie* als eine eigene klinische Entität und bezeichnete sie als *Karzinoide* (= karzinomähnlich), da er die Tumore zu diesem Zeitpunkt noch als ausschließlich benigne ansah (Oberndorfer 1907). Er wollte damit deutlich machen, dass es im Darm seltene karzinomähnliche Tumore gibt, die weniger aggressiv sind als gewöhnliche Karzinome.

1929 revidierte er diese Aussage und stellte in seinem *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie* die potentielle Malignität der Karzinoide und die Tendenz zur Metastasierung dar (Modlin et al. 2004). Ein Bezug zur hormonellen Produktion war zu diesem Zeitpunkt noch nicht bekannt.

Obwohl N. Kultchinsky (1856-1925) bereits 1897 die enterochromaffine Zelle und damit eine der Ursprungszellen der Karzinoide morphologisch beschrieben hatte, wurde erst 1914 durch A. Gosset (1872-1944) und P. Masson (1880-1959) mit der Verwendung einer neuen Versilberungstechnik die Vermutung geäußert, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von enterochromaffinen Zellen und Karzinoiden geben könnte (Modlin et al. 2004). Masson nahm damals schon an, dass die *Kultchinsky-Zellen* und die Tumorzellen eine endokrine Funktion haben.

Als M. Rapport dann 1948 das erste Mal Serotonin isolieren und nachweisen konnte, war die Voraussetzung für den biochemischen Nachweis von Serotonin in karzinoiden Zellen des Ileums durch F. Lembeck (1922-) im Jahr 1953 gelegt. Durch die Arbeit von F. Feyrter und später A. Pearse, der 1966 den Nachweis eines „amine precursor uptake and decarboxylation“ in endokrinen Zellen des Gastrointestinaltraktes und des

Pankreas lieferte, konnte das diffuse neuroendokrine System (APUD) etabliert werden (Modlin et al. 2004, Klöppel 2007a). Pearse postulierte einen gemeinsamen neuroektodermalen Ursprung der gastrointestinalen endokrinen Zellen. Diese Hypothese konnte nicht bestätigt werden, denn man geht heute davon aus, dass GEP-NET von einer gemeinsamen Stammzelle hervorgehen. Allerdings legten Pearses Vermutungen den Grundstein für die Begriffe *Neuroendokriner Tumor* und *Neuroendokrines Karzinom* (Arnold 2005).

Die Bezeichnung *neuroendokrin* geht dabei auf die phänotypische Verwandtschaft mit neuronalen Zellen bezüglich der Expression von Proteinen wie Synaptophysin, Chromogranin A oder Neuronenspezifische Enolase (NSE) zurück (Klöppel et al. 2004). Deshalb werden diese Proteine auch in der klinischen und morphologischen Diagnostik der GEP-NET als Marker eingesetzt (s. Kap. 2.1.5, S. 9).

2.1.3 Epidemiologie, Lokalisation und Prognose

Die Inzidenzangaben zu GEP-NET bewegen sich in der Literatur zwischen 0,4 und 4,2 pro 100.000 Einwohner und sind wegen der Seltenheit, der langen klinischen Verläufe und der schwierigen Diagnosestellung vorsichtig zu betrachten (Tomassetti et al. 2001, Taal und Visser 2004). Die Häufigkeit wurde in einer schwedischen Studie für Männer mit 2,0/100.000 und für Frauen mit 2,4/100.000 angegeben (Hemminki und Li 2001). Im internationalen Vergleich hat die USA eine deutlich höhere Inzidenz besonders unter Schwarzen zu verzeichnen (Modlin et al. 2003, Modlin et al. 2008).

NET treten meist sporadisch auf, können sich aber auch im Rahmen der autosomal-dominant vererbten *Multiplen Endokrinen Neoplasie Typ 1 (MEN 1)*, der *Von-Hippel-Lindau-Erkrankung* oder der *Neurofibromatose Typ 1* äußern.

In einer kürzlichen Analyse von 10.878 Karzinoiden des „Surveillance, Epidemiology and End Result (SEER)“ Programmes des *National Cancer Institute* (USA) machen GEP-NET ca. 64% der NET aus und kommen mit abnehmender Häufigkeit im Dünndarm (41,8%) (Ileum 19,8%, Duodenum 5,7%), Rektum (27,4%), Kolon (ausgenommen Appendix) (11,3%), Magen (8,7%) und Appendix (3,6%) vor. Die Angaben für Pankreas, Ösophagus und Gallengangssystem liegen unter 1% (Klöppel 2003, Modlin et al. 2003, Taal und Visser 2004). Durch zunehmende Endoskopiediagnostik werden sich die Daten aber in den nächsten Jahren weiter ändern. Während z.B. ältere Zahlen zum Auftreten im Magen noch bei 2-4% lagen, bewegen sie sich seit ein paar Jahren schon zwischen 11 und 41%. In Japan sind NET des Magens mit 30% bereits der häufigste GEP-NET (Klöppel 2007b).

Die 5-Jahres-Überlebensrate (5-J-ÜLR) beträgt bei lokal fortgeschrittener Erkrankung noch 75%, sinkt jedoch bei Metastasierung und in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primums auf 18 - 30% ab. So geht ein lokal begrenzter NET der Appendix mit einer 5-J-ÜLR von 94% einher, während die Rate bei NET des Pankreas dagegen nur 34% beträgt (Scherübl et al. 2003). Für Vorder-, Mittel- und Hinterdarmtumore beträgt die 5-J-ÜLR etwa 45%, 61% bzw. 72% bei allen Stadien (Scherübl et al. 2003).

2.1.4 Klinik

Die Klinik neuroendokriner Tumore präsentiert sich sehr vielfältig. In der Regel sind NET sehr langsam wachsende Tumore. Abhängig von der Lokalisation des Primums, Größe, Sekretions-, Wachstums- und Metastasierungsverhalten können völlig unterschiedliche Krankheitsbilder entstehen. Eines der klinischen Syndrome, das *Karzinoidsyndrom*, wurde bereits 1890 durch Ransom beschrieben. Er berichtete über eine 50jährige Patientin, die über „Schmerzen nach dem Essen mit Diarrhoe, manchmal fünf bis sechs Stuhlgänge nach wenig Essen“ und über Symptome wie „geschwollener Bauch, deutliche Kachexie und schwere Anfälle von Dyspnoe, verschlimmert durch Essen“ klagte (Ransom 1890).

Etwa 50% der GEP-NET sind *nichtfunktionelle inaktive* NET. Sie zeigen meist subklinische Verläufe und werden deshalb erst spät und oft mit bereits vorhandener Fernmetastasierung erkannt. Sie fallen dann eher mit lokalen Beschwerden (z.B. abdomielle Schmerzen, Ikterus, Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen) aufgrund des fortgeschrittenen Tumorwachstums auf (Gimm und Dralle 2004) oder gehen mit tumorbedingter B-Symptomatik (Gewichtsverlust, Nachtschweiß, Abgeschlagenheit) einher (Arnold et al. 2004). Nicht selten werden sie, v.a. im Bereich der Appendix, als Zufallsbefund diagnostiziert.

Die meisten *funktionell aktiven Tumore* des Gastrointestinaltraktes sind im Pankreas und im Duodenum lokalisiert. Sie können durch die unkontrollierte Freisetzung des in ihren Sekretgranula synthetisierten Hormons oder Neurotransmitters (z.B. Insulin, Gastrin, Glukagon, Somatostatin, VIP, PP) verschiedenste Symptome produzieren, wie das *Zollinger-Ellison*-, *Verner-Morrison*-, *Glukagonom*- oder *Karzinoidsyndrom* (s. Tab. 2.4) (Arnold et al. 2004, Plöckinger und Wiedenmann 2004b).

Lebensbedrohliche Situationen können u.a. beim *Hypoglykämiesyndrom* infolge eines Insulinoms entstehen. Dieses Syndrom geht mit Tremor, Schweißausbrüchen, Tachykardie und Heißhunger einher und kann oft eine Zeit lang durch gesteigerte Nahrungsaufnahme kompensiert werden. Das *Karzinoidsyndrom* kommt nur in 10% der Fälle vor

und manifestiert sich mit wenigen Ausnahmen immer mit Vorhandensein von Lebermetastasen. Die häufigsten Symptome sind Flush, Diarrhö, kardiale Fibrose, Atemnot und Pellagra (Tomassetti et al. 2001, Gimm und Dralle 2004).

Hormon/ Neurotransmitter	funktioneller Tumor/ Syndrom	Klinik/ Symptomatik
Insulin	Insulinom	Bewusstseinseinschränkungen, Sehstörungen, Nüchternhypoglykämien
Gastrin	Gastrinom, Zollinger-Ellison	rezidivierende peptische Ulzera (v.a. duodenal), sekretorische Diarrhö, Maldigestion
VIP	VIPom, Verner-Morrison	exzessive sekretorische Diarrhö, Exsikkose, Hypo- oder Achlorhydrie, Hypokaliämie
Glukagon	Glukagonom	Dermatitis (nekrolytisches migrierendes Erythem), Glukoseintoleranz bzw. Diabetes mellitus, Gewichtsverlust
Somatostatin	Somatostatinom	Diabetes mellitus, Gallensteine
Serotonin	Karzinoidsyndrom	Flush, sekretorische Diarrhö, Endokardfibrose des rechten Herzens, Bronchokonstriktion

(modifiziert nach Tilling et al. 2002 und Plöckinger und Wiedenmann 2004b)

Tabelle 2.4: Klinische Symptome und Syndrome funktioneller NET

2.1.5 Diagnostik

2.1.5.1 Laborchemische Diagnostik

Viele NET produzieren eine Reihe von Peptidhormonen und bioaktiven Aminen. Diese Produkte gelangen in den Blutkreislauf und sind für die NET-assoziierten Syndrome verantwortlich. Sie können im venösen Blut gemessen werden (Ardill 2008).

Die Diagnostik mittels neuroendokriner Markerproteine wie Chromogranin A (CgA), Neuronenspezifische Enolase (NSE) oder Serotonin im Serum bestätigt den Verdacht auf das Vorliegen eines NET und ist bei funktionellen wie nichtfunktionellen NET gleichermaßen sinnvoll (Rindi et al. 2000). Schlecht differenzierte NET sind häufig nur für zytosolische Marker, wie NSE positiv, während mit ansteigendem Grad der Differenzierung auch die Häufigkeit weiterer Marker (CgA, Serotonin) zunimmt, wie die Arbeit von Stivanello et al. (2001) zeigen konnte. In dieser Studie mit 178 Patienten mit NET konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen gut differenzierten NET und höheren CgA-Plasmaspiegeln nachgewiesen werden.

Chromogranin A (CgA) ist dabei das sensitivste Markerprotein für jegliche neuroendokrine Tumorerkrankung, sowohl zur Diagnosefindung (Spezifität und Sensitivität) als auch zur Verlaufskontrolle oder zur Therapieüberwachung (Eriksson et al. 2000, Plöckinger und Wiedenmann 2004a). Es wird als Bestandteil der Membran der Sekretgranula im Rahmen der Hypersekretion mit Peptidhormonen sezerniert und bewirkt einen erhöhten Serumspiegel in 60-80% aller GEP-NET (Stivanello et al. 2001, Scherübl et al. 2003). Die vollständige Funktion von CgA ist noch immer nicht ganz verstanden. Man geht aber davon aus, dass es in die Modifizierung und Prozessierung von Peptidhormonen und Vorläufern von Neuropeptiden involviert ist (Ardill 2008).

Bei Verdacht auf funktionelle NET bietet sich die Möglichkeit, anhand von zelltypspezifischen Hormonen und Transmittern eine sehr viel sensitivere Bewertung zu erreichen, z.B. durch Bestimmung von Insulin (Insulinom), Gastrin (Gastrinom), VIP (VIPom), Somatostatin (Somatostatinom), Glukagon (Glukagonom) oder 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIES) bei funktionellen Tumoren des Dünndarms, die Serotonin produzieren. Beim damit einhergehenden Karzinoidsyndrom ist die enzymatische Umwandlung von Tryptophan in Serotonin gesteigert. Deshalb kann eine vermehrte Ausscheidung des Serotoninmetaboliten 5-HIES im 24-h-Urin ein Hinweis für ein NET sein (Plöckinger und Wiedenmann 2004a).

2.1.5.2 Histopathologie

Neuroendokrine Tumorzellen sind durch eine uniforme Kernform und meist schwach gefärbtes (klares) Zytoplasma gekennzeichnet und zeigen ähnliche Grundcharakteristika wie neuroendokrine Zellen. Sie kommen entweder als massive oder kleine trabekelförmige Cluster vor oder liegen zwischen anderen Zellen verstreut, was sie in Hämatoxylin-Eosin-Färbungen (HE) schwer erkennbar macht. Eine histologische Einteilung nach dem Wachstumsschema insulär, trabekulär, glandulär, gemischt oder undifferenziert wurde bereits 1971 von J. Soga erstellt (Soga und Tazawa 1971). Tumore des Vorderdarms zeigen meist ein gemischtes Wachstumsschema, während Mitteldarmtumore eine typisch insuläre Formation von gleichförmigen Tumorzellen aufweisen, die von fibrotischem Stroma umgeben sind. Hinterdarmtumore kommen eher in trabekulärer oder geschlossener Form vor (Wilander 1989).

Die histopathologische Diagnostik stellt das Hauptkriterium der WHO-Klassifikation dar, die Tumorgroße, Mitoserate, Zelltypen, Proliferationsindex und Angioinvasion mit einbezieht. Die zelltypspezifische Charakterisierung erfordert neben der konventionellen HE-Färbung zusätzlich den immunhistochemischen Nachweis der Markerprote-

ine Synaptophysin und Chromogranin A. Bis zur Etablierung der Immunhistochemie wurden diese Zellen durch Versilberungstechnik dargestellt.

2.1.5.3 Immunhistochemie

Immunhistochemische Methoden haben sich in der Diagnostik von Patienten mit NET auch im klinischen Alltag bewährt. Routinemäßig angewandte Gewebemarkers sind dabei CgA (s. Kap. 2.1.5.1) und Synaptophysin sowie der Ki-67-Index zur Prognose- und Aggressivitätseinschätzung (Costa et al. 2008). Aufgrund der oft unspezifischen Ergebnisse mit der früher eingesetzten NSE, sollte diese nicht mehr verwendet werden (Tiling et al. 2002). Daneben gibt es eine Reihe anderer Marker, die in der Routinediagnostik jedoch kaum Anwendung finden, z.B. NCAM (Neural cell adhesion molecule) als Zellmembran-Marker, CDX2 (Caudal type homeobox transcription factor 2) als Transkriptionsfaktor für die Regulierung der Epithelentwicklung oder TTF-1 (Thyroidaler Transkriptionsfaktor 1), ein Transkriptionsprotein der Homöobox-Gen-NK 2-Genfamilie (Klöppel 2007c).

Eine zusätzliche Diagnostik mit Antikörpern gegen einzelne spezifische Antigene sollte nur gezielt und beim Vorliegen eines Hypersekretionssyndroms (z.B. Gastrin beim Zollinger-Ellison-Syndrom) durchgeführt werden. Der Vorteil der Immunhistochemie besteht u.a. darin, dass Tumore, welche die Fähigkeit zur Peptidhormonproduktion verloren haben, oben genannte Antigene trotzdem exprimieren und deshalb z.B. für CgA positiv sein können (Eriksson et al. 2000). Dabei haben hochdifferenzierte NET häufig eine diffuse intensive Expression von CgA, während niedrig differenzierte Tumore eher zytosolische Marker wie Synaptophysin exprimieren. CgA kann dabei vollständig fehlen (Rindi et al. 2000).

Synaptophysin Synaptophysin ist ein charakteristisches Membranprotein (Molekulargewicht 38kDa) der klassischen kleinen synaptischen Vesikel (small synaptic vesicles, SSV). Es kommt in präsynaptischen Vesikeln von Nervenzellen vor und gilt als spezifisch, da in Nicht-Neuronenzellen kein Äquivalent vorhanden ist. Außerdem ist Synaptophysin ubiquitär auf kleinen pleomorphen Vesikeln neuroendokriner Zellen verteilt, jedoch nicht auf den sekretorischen Granula. Deshalb ist bei der immunhistochemischen Suche nach NET-Zellen die Kombination mit einem Antikörper gegen CgA sinnvoll (Klöppel 2007c).

Ki-67 Der Ki-67-Index dient bei der Diagnostik als Prognoseindikator zum Grading der Tumorerkrankung (s. Tab. 2.5). Ki-67, das durch den monoklonalen Antikörper

MIB-1 detektiert wird, ist ein nukleäres Antigen. Es wird in der späten G1-, S-, G2- und M-Phase exprimiert, jedoch nicht in der G0-Phase. Mit diesem Index kann deshalb die Proliferationsaktivität des Tumors dargestellt werden. Stark proliferierendes Gewebe zeigt einen hohen Ki-67-Index (z. B. Keimzentren von reaktiven Lymphozyten in Lymphknoten), was oft mit einem geringen Differenzierungsgrad und damit einer ungünstigeren Prognose assoziiert ist (Scholzen und Gerdes 2000, Brown und Gatter 2002).

Grade	Mitosen (10 HPF) ^a	Ki-67 Index (%) ^b
G1	<2	≤2
G2	2-20	3-20
G3	>20	>20

a 10 HPF: high power field = 2cm², mind. 40 Felder (40x Vergrößerung, Gebiete mit höchster mitotischer Dichte)
b MIB-1 Antikörper, in % von 2000 Tumorzellen in Gegenden mit höchster nukleärer Färbung
(modifiziert nach Rindi et al. 2007)

Tabelle 2.5: Grading für neuroendokrine Tumore des Verdauungstraktes

Somatostatinrezeptoren GEP-NET sind eine Gruppe von Tumoren, die sehr häufig Somatostatinrezeptoren überexprimieren. Die Entdeckung der Überexpression Mitte der 1980er Jahre bildet die molekulare Basis für eine Reihe von klinischen Untersuchungen, symptomatischen Therapien, in vivo-Diagnostik und Radiopeptidtherapie und hilft bei der prognostischen Einschätzung (Reubi 2004). Eine ausführliche Abhandlung findet in Kapitel 2.2 auf Seite 21 und in Kapitel 2.3 auf Seite 25 statt.

2.1.5.4 Bildgebung

Die extreme Heterogenität der GEP-NET erschwert die Erstellung evidenzbasierter standardisierter Vorgehensweisen in der bildgebenden Diagnostik. Die adäquate Klassifizierung der NET anhand biochemischer, histopathologischer und molekulargenetischer Kriterien hat einen wesentlichen Einfluss auf die Wahl der bildgebenden Modalität (Amthauer et al. 2004). Deshalb sollte erst nach der biochemischen Sicherung der Diagnose die jeweils dem Tumor entsprechende Lokisationsdiagnostik eingeleitet werden (Plöckinger und Wiedenmann 2004a).

Die Wahl der optimalen Bildgebungsmodalität ist davon abhängig, ob es sich um die Suche nach dem Primärtumor oder nach Metastasen handelt. Die Einteilung der NET nach der Lokalisation des Primärtumors ist prognostisch bedeutsam und essentiell für das Management von GEP-NET.

Im Rahmen der Konsensus-Empfehlungen der *European Neuroendocrine Tumor Group* (ENET) wurden verschiedene diagnostische Strategien für die einzelnen Tumorentitäten erarbeitet. Zur Diagnostik steht dabei eine Vielzahl von bildgebenden Verfahren zur Verfügung: Konventionelle Radiologie (transabdominelle Sonographie, CT, MRT), selektive Angiographie, Nuklearmedizin (Somatostatin-Rezeptor-Szintigraphie [SRS], Skelettszintigraphie, Positronen-Emissions-Tomographie [PET], Single-Photon-Emissions-Tomographie), Endosonographie und verschiedene intraoperative Methoden (intraoperative Sonographie, Gamma- und PET-Sonde). Keines der Verfahren ist zu 100% sensitiv und oft sind mehrere Untersuchungen notwendig, um kleine biochemisch diagnostizierte NET zu lokalisieren. Mehrere neue Verfahren zur Verbesserung der Sensitivität und zum Auffinden von Mikrometastasen sind in Erprobung. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die Vielfalt der diagnostischen Methoden gegeben werden. Die nuklearmedizinische Diagnostik wird im Anschluss ausführlich auf Seite 25 besprochen.

Transabdomielle Sonographie Der transabdominelle Ultraschall ist als initiale bildgebende Diagnostik allgemein anerkannt, allerdings ist die Qualität erheblich vom Untersucher abhängig (Ricke et al. 2001, Amthauer et al. 2004). Die oftmals geringe Tumorgöße der NET und eine Überlagerung durch gasgefüllte Darmschlingen lassen diese Methode schnell an ihre Grenzen stoßen. Eine weitere Charakterisierung durch Doppler- und Powerdoppler-Sonographie ist mit den heute verfügbaren Ultraschallkontrastmitteln möglich.

Endosonographie Die Endosonographie hat ihren Stellenwert in der Lokalisations- und Infiltrationsdiagnostik von Primärtumoren und Lymphknotenmetastasen im Bereich des Magens, Duodenums, Pankreas und Rektums. Die Sensitivität wird mit 90-100% für Lokalisationen im Pankreas, aber nur mit 45-60% im Duodenum angegeben (Scherübl et al. 2003, Modlin et al. 2008). In einer prospektiven Studie von Anderson et al. (2000) bei 82 Patienten mit neuroendokrinem Pankreastumor konnte eine Sensitivität von 93% erreicht werden. Die Spezifität lag bei 95%. Auch kleinere Läsionen des Pankreaskopfes von weniger als 2 cm Durchmesser, die durch transabdominellen Ultraschall, CT oder Angiographie in 40-60% übersehen werden, konnten gut erfasst werden.

Intraoperative Sonographie Für den intraoperativen Ultraschall (IOUS) in Kombination mit der intraoperativen Palpation wird eine Sensitivität von über 97% für die genaue Lokalisation einer solitären Läsion beschrieben. Zusätzlich können mit dieser

Methode die genaue Lagebeziehung des Tumors zu den umliegenden Gefäßen und evtl. vorhandene Lebermetastasen beurteilt werden. Fendrich et al. (2004) kamen in einer prospektiv durchgeführten Beobachtungsstudie bei 40 Patienten mit Insulinomen zu dem Schluss, dass nach biochemischer Diagnosesicherung eines Insulinoms wegen der hohen Sensitivität des IOUS auf weitere präoperative Lokalisationsdiagnostik verzichtet werden kann.

Computertomographie (CT)/ Magnetresonanztomographie (MRT)

Nach Amthauer et al. (2004) stellen CT und MRT bei pankreatischen NET in der präoperativen Diagnostik, im Therapiemonitoring und zur Darstellung von Metastasen ein etabliertes Standardverfahren dar. Die Sensitivität beider Methoden korreliert stark mit der Tumorgröße: In der CT werden Tumore < 1 cm gar nicht, zwischen 1 und 3 cm Größe in 30% der Fälle und Tumore > 3 cm in 95% erkannt. Für extrapankreatische Läsionen ist diese Methode jedoch weniger geeignet, die Sensitivitäten liegen zwischen 30 und 50% (Plöckinger und Wiedenmann 2004a, Rockall und Reznick 2007). Für die Pankreasdiagnostik hat sich besonders die Kombination der tomographischen Darstellung mit der MR-Cholangiopankreatikographie (MRCP) und der MR-Angiographie (MRA) als hochsensitiv erwiesen (Amthauer et al. 2004).

Alle konventionellen Verfahren können Läsionen < 1 cm nur schwer bzw. gar nicht erfassen. Das wirkliche Ausmaß der Erkrankung wird deshalb oft unterschätzt. Derzeit kann der Primärtumor in 20-50% der Fälle nicht lokalisiert werden, Gastrinome und Karzinoide sind besonders schwer zu identifizieren (Modlin et al. 2008). Im Allgemeinen liegt die Sensitivität von MRT und CT bei 22-45%, was immer noch höher ist als die der transabdominellen Sonographie (13-27%). Die Angiographie kann ca. 40-75% der Läsionen erfassen (Scherübl et al. 2003, Modlin et al. 2008).

Während die Darstellung von Tumoren oder Metastasen mittels konventioneller radiologischer Verfahren auf morphologischen Kriterien und Dichteunterschieden zum umliegenden Gewebe beruht, ist das Prinzip der nuklearmedizinischen Diagnostik (s. Kap. 2.3 auf S. 25) die spezifische Bindung eines Radioisotop-markierten Peptids an den Rezeptor und damit eine funktionelle Darstellung (Baum und Hofmann 2004). Außerdem ermöglichte die Einführung von SPECT/CT und PET/CT eine Korrelation funktioneller Parameter mit der anatomischen Lokalisation.

Somatostatin-Rezeptor-Szintigraphie (SRS) (s. auch Kap. 2.3.2, S. 27)

Die SRS ist der derzeitige Goldstandard zum Nachweis rezeptorpositiver GEP-NET oder deren Metastasen (Warner 2005). Auch sehr kleine Primärtumore oder Metastasen < 1 cm können szintigraphisch detektiert werden, weswegen dieses Verfahren den morphologisch bildgebenden Verfahren überlegen ist. Die SRS erreicht in der Literatur meist eine Sensitivität von 70 - 90% bei einer Spezifität von bis zu 90% (Scherübl et al. 2003).

PET/CT Die PET/CT wird im Rahmen der nuklearmedizinischen Diagnostik auf Seite 27 ausführlich besprochen.

Intraoperative PET- oder Gamma-Sonde Neben dem intraoperativen Ultraschall stellen diese Verfahren einen weiteren Fortschritt in der Diagnostik von kleinsten NET-Läsionen dar, die mit konventionellen Methoden nicht oder nur schwer dargestellt werden können. Dem Chirurgen ermöglicht die intraoperative Verwendung der Radionuklid-Sonde eine genaue Beurteilung und Lokalisation kleinster NETs und deren Metastasen, die intraoperativ oft schwer zu identifizieren sind (Adams et al. 1998a, Haren und Fitzgerald 2008). Der Vorteil dieser Methode zeigt sich besonders bei Tumoren, die sich innerhalb von Narbengewebe befinden oder bei der Lokalisation kleinster befallener Lymphknoten (Gulec 2007).

2.1.6 Therapieprinzipien

Da GEP-NET eine sehr heterogene Gruppe von Neoplasien darstellen, müssen geeignete Therapieoptionen individuell und interdisziplinär entschieden werden. Die Behandlung ist abhängig von Größe, Lokalisation, Funktionalität, Differenzierung und dem Wachstum des Primärtumors. Deshalb sollte eine interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Endokrinologen, Gastroenterologen, Chirurgen, Nuklearmedizinern und Radiologen erfolgen, um eine optimale Therapie für jeden einzelnen Patienten zu ermöglichen. Da 50 - 70% der Patienten mit Karzinoidsyndrom eine Herzbeteiligung in Form einer Endokardfibrose aufweisen, die nicht selten die klinische Symptomatik sowie die Prognose der Erkrankung bestimmt, ist auch eine kardiologische Mitbetreuung des Patienten erforderlich. Für die einzelnen Tumorentitäten stehen unterschiedlichste Therapieoptionen zur Verfügung (s. Abb. 2.1), die nachfolgend im Überblick behandelt werden sollen. Diese orientieren sich nach Spitzweg und Göke (2002) an folgenden drei Grundprinzipien:

1. chirurgische Therapie solitärer Tumore als einziger kurativer Ansatz, bzw. chirurgisches Tumordebulking zur Kontrolle des Tumorwachstums,
2. medikamentöse Therapie bei nicht resezierbaren Tumoren oder in der präoperativen Vorbereitung zur Kontrolle der durch die unkontrollierte Hormonfreisetzung bedingten, klinischen Symptome und damit Erhaltung der Lebensqualität,
3. Pharmaka zur Eindämmung des Tumorwachstums oder Chemoembolisation bei Lebermetastasen.

Chirurgie	<ul style="list-style-type: none"> • Entfernung des Primärtumors • Tumordebulking • Transplantation
Ablative Verfahren	<ul style="list-style-type: none"> • Chemoembolisation • Radiofrequenz-Ablation • Ethanol-Ablation • Selektive interne Radiotherapie (SIRT) • Radiochirurgie
Radiopeptidtherapie	<ul style="list-style-type: none"> • ⁹⁰Yttrium-markierte SMS-Analoga • ¹⁷⁷Lutetium-markierte SMS-Analoga
Chemotherapie	<ul style="list-style-type: none"> • Streptozotocin • Doxorubicin • Cisplatin • Etoposid • Dacarbazin
Biotherapie	<ul style="list-style-type: none"> • Octreotid • Interferon
Medikamente	<ul style="list-style-type: none"> • Protonenpumpeninhibitor bei Zollinger-Ellison-Syndrom • Diazoxid

(modifiziert nach Arnold 2005)

Abbildung 2.1: Therapieoptionen für NET

2.1.6.1 Chirurgische Therapie

Therapie der Wahl ist die chirurgische Resektion des Primärtumors und der metastatisch befallenen Lymphknoten, wobei deren Ausmaß v.a. von der Tumorlokalisation und dem Grading bestimmt wird und auch die Heredität einen wichtigen Einfluss hat (Gimm und Dralle 2004). Bei solitären, kleinen Pankreastumoren kann die Enukleation ausreichend sein, während bei größeren Tumoren Kopf-, zentrale Segment- oder distale Resektionen erforderlich sind. Bei malignen Tumoren sind die Standards der exokrinen Pankreaschirurgie anzuwenden. Tumore des Magens können oft endoskopisch abgetragen werden, ausgedehnte Resektionen bei malignen Tumoren richten sich nach den Standards der Magenchirurgie. Bei submukösen NET des Duodenums können lokale Resektionen durchgeführt werden. Anderenfalls sind ausgedehnte Resektionsverfahren entsprechend onkologischen Prinzipien angezeigt. Der prognostisch günstigste Fall liegt bei Karzinoiden der Appendix vor, welche die Serosa nicht überschreiten und nicht in die Mesoappendix infiltrieren. In diesem Fall kann eine Heilung des Patienten durch kurative Appendektomie erzielt werden (Spitzweg und Göke 2002).

Symptomatische Patienten haben zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits zu 90% Metastasen und ein kurativer chirurgischer Ansatz ist nicht mehr möglich (Raut 2006). Eine chirurgische Therapie sollte jedoch auch in palliativen Situationen erfolgen, um das Auftreten und den Schweregrad typischer Tumorsymptome durch eine Reduktion der Tumormasse (Tumordebulking) zu vermeiden bzw. zu vermindern und ein besseres Ansprechen auf nachfolgende Therapien zu erzielen. Metastasen können intestinale Obstruktionen und Ischämien auslösen und sollten deshalb möglichst frühzeitig reseziert werden (Ackerström und Hellmann 2007). Die Therapieoptionen bestehen dabei nicht nur aus Leberteilresektionen. Eine gute Alternative bieten Embolisation bzw. Chemoembolisation (s. Kap. 2.1.6.5) und die *Radiofrequenzablation (RFA)*. Bei dieser Methode werden Radiofrequenzen in Hitze umgewandelt, welche über 60°C eine Thermokoagulation und Zerstörung bewirkt. Die RFA kann bei weniger als fünf Metastasen mit einem Durchmesser < 35 mm eingesetzt werden (Wessels und Schell 2001, Toumpanakis et al. 2007).

Selbst bei einer R0-Resektion des Primärtumors treten bei 85% der Patienten noch nach Jahren Lebermetastasen auf (Ackerström und Hellmann 2007). Doch auch bei inoperablen Lebermetastasen sollte die Chance zur vollständigen Resektion von Primärtumor und Lymphknotenmetastasen wahrgenommen werden, da dieses Vorgehen laut einer Studie an 314 Patienten mit diagnostiziertem Mitteldarmtumor die Überlebenszeit verlängert (Hellman et al. 2002).

Da ein Großteil der Patienten erst in fortgeschrittenen metastasierten Stadien vorstellig

wird, ist eine chirurgische Heilung nur in seltenen Fällen möglich, sodass alternative Therapien wichtige Pfeiler in der Behandlung von Patienten mit NET sind.

2.1.6.2 Biotherapie

Somatostatinanaloga Die symptomatische Therapie der Wahl beim metastasierten Karzinoid ist die Anwendung langwirksamer Somatostatinanaloga (SMS-Analoga, s. Kap. 2.3.1 auf S. 25). Diese wirken insbesondere über den Somatostatinrezeptor 2A (s. Kap. 2.2, S. 21), der auf NET stark überexprimiert ist, und hemmen dadurch die Synthese und Freisetzung von Hormonen und Neurotransmittern in neuroendokrinen Zellen des Gastrointestinaltrakts. Spezifische Symptome funktioneller Tumore können dadurch reduziert werden. *Octreotid* lindert bzw. normalisiert in einer Dosierung von $3 \times 50 \mu g$ bis zu $3 \times 500 \mu g/d$ s. c. in 75-90% der Fälle die häufigsten Symptome beim Karzinoidsyndrom, wie Diarrhö, Flush und Bronchokonstriktion (Arnold et al. 2000). Octreotid ist auch Medikament der Wahl zur Prophylaxe und Therapie einer Karzinoidkrise und sollte in einer Dosierung von 100-400 μg vor, während und nach chirurgischen Resektionen oder anderen Tumormanipulationen gegeben werden. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass langwirksame Somatostatinanaloga wie *Octreotid* (Wirkungsdauer 8 h), *Lanreotid* (10-14 d) oder das *Long-acting-release (LAR)-Octreotid* (28 d) nicht nur die Hormonsekretion der Tumorzellen hemmen, sondern auch antiproliferative Effekte haben, die evtl. über SSTR 2A und 5 vermittelt werden (Arnold et al. 2000). In Einzelfällen wurde sogar über eine Regression unter Somatostatinanaloga-Hochdosis-Therapie mit *Lanreotid* $3 \times 5 mg/d$ s. c. berichtet (Faiss et al. 1999). Die Nebenwirkungen einer Therapie mit Somatostatinanaloga umfassen Flatulenz, Diarrhö, Steatorrhoe, Hyperglykämie und Cholezystolithiasis, wobei die Inzidenz gering ist und nur selten zum Therapieabbruch führt (Spitzweg und Göke 2002).

Interferon-alpha Interferon-alpha hat bei GEP-NET einen antiproliferativen Effekt. Diese Wirkung beruht u.a. auf dem Eingriff in den Zellzyklus, der Induktion von Apoptose in den Tumorzellen sowie einer Stimulierung der natürlichen Killerzellen durch Induktion der Expression von Klasse-I-Antigenen auf der Tumorzelloberfläche. Auch ein antiangiogenetischer Effekt von Interferon-alpha wird diskutiert. Bei einer durchschnittlichen Dosis von 5 Mio. Einheiten 3-5 x pro Woche besteht ein biochemisches Ansprechen mit Symptomverbesserung in 40-50% der Fälle, eine Tumorstabilisierung in 20-40% und eine Tumerverkleinerung in 10-15%. Nach Beginn der Therapie von Karzinoiden des Mitteldarms wurden in einigen Studien mittlere Überlebensraten von über drei Jahre angegeben (Öberg 2000, Plöckinger und Wiedenmann 2007).

Es wird alternativ zu SMS-Analoga als Monotherapie eingesetzt. Während man bisher von einer Potenzierung der Wirkung bei einer Kombination mit SMS-Analoga ausging, zeigte eine Multizenter-Studie keinen Vorteil (Faiss et al. 2003). In dieser prospektiven randomisierten Studie wurden 80 Patienten mit histologisch diagnostiziertem GEP-NET in drei Gruppen entweder mit $3 \times 1 \text{ mg Lanreotid s.c. pro Tag}$, Interferon-alpha $5 \times 10^6 \text{ U } 3 \times \text{ pro Woche}$ oder mit einer Kombination aus beiden Substanzen behandelt. Für keine der Gruppen konnte ein signifikanter Unterschied in der antiproliferativen Wirkung festgestellt werden. Stattdessen stieg die Zahl der Nebenwirkungen in den mit Interferon behandelten Gruppen deutlich an. Häufige Nebenwirkungen ($> 50\%$) sind grippeähnliche Symptome, Gewichtsverlust und chronische Müdigkeit.

2.1.6.3 Chemotherapie

Im Gegensatz zu malignen NET des Magens, Dünndarms oder Dickdarms ist die systemische Chemotherapie bei NET des Pankreas erfolgsversprechend. Hier zeigen Kombinationen aus Streptozotocin und Doxorubicin bzw. 5-Fluorouracil einen therapeutischen Effekt mit partiellen Remissionen bei 60-70% der Patienten und eine mittlere Überlebenszeit von etwa zwei Jahren (Öberg 2001, Toumpanakis et al. 2007). Bei Nichtansprechen auf die Therapie mit SMS-Analoga oder Interferon-alpha wird bei NET des Pankreas daher eine Chemotherapie empfohlen. Ungeachtet der Lokalisation des Primums ist die Chemotherapie immer eine Therapieoption bei Patienten mit hoher Proliferationsrate (Ki-67 Index $> 10\%$) (Öberg 2001).

2.1.6.4 Strahlentherapie

Die perkutane Strahlentherapie gehört zu den älteren Therapieprinzipien der Behandlung neuroendokriner Tumoren. Heute nimmt die perkutane Strahlentherapie ihren Platz v.a. in der lokalen Therapie von ossären Metastasen ein. Mit der perkutanen Strahlentherapie kann in hohem Maße ein palliativer, mitunter sogar ein lokal kurativer Effekt erzielt werden. Die Ziele der primären Strahlentherapie bei nichtresektablen Tumoren bestehen im Erreichen einer Schmerzregredienz, einer Obstruktionsverhinderung mit Ileusprophylaxe und der Verringerung der Hormonausschüttung (Pigorsch et al. 2004). Die häufigsten Metastasenlokalisationen stellen Leber, Knochen und ZNS dar. In der größten vorliegenden Studie von Schupak und Wallner (1991) mit insgesamt 44 Patienten betrug das Gesamtansprechen 80%.

2.1.6.5 Embolisation/ Chemoembolisation

NET metastasieren zum überwiegenden Teil in die Leber. Diese Metastasen sind ein negativer prognostischer Faktor für die Überlebenszeit und Lebensqualität der Patienten. Die 5-JÜR sinkt dadurch von 70% auf 40% (Toumpanakis et al. 2007). Eine kurative chirurgische Resektion der Metastasen ist zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zu meist nicht mehr möglich (Kress et al. 2004). Gesundes Lebergewebe wird zu 75% über das portalvenöse System und zu 25% über die Leberarterien versorgt. Da die Lebermetastasen praktisch keinen Anschluss an Pfortaderäste besitzen und zu 90% über arterielle Gefäße versorgt werden, kann eine Unterbrechung der Blutversorgung über eine temporäre, selektive Embolisierung der A. hepatica erreicht werden. Dadurch wird eine Tumorschämie und -nekrose induziert, sowie ein Wachstumsstillstand und eine Verminderung der Hormonfreisetzung erreicht. Neben der *hepatischen arteriellen Embolisation (HAE)* mittels absorbierbarer und nichtabsorbierbarer Embolisationsmaterialien (Gelfoam-Puder, Alkohol-Ivalon-Partikel), kann ein Verschluss auch mit der intraarteriellen Applikation von Chemotherapeutika kombiniert werden (HACE = hepatische arterielle Chemoembolisation). Hierdurch werden im Vergleich zur systemischen Applikation 20-fach höhere Konzentrationen im Lebergewebe unter Minimierung der systemischen Nebenwirkungen erreicht (Kress et al. 2004). Die Hypoxie erzielt eine Wirkungsverstärkung der Zytostatika und eine Tumorverkleinerung kann in etwa einem Drittel der Fälle nachgewiesen werden (Spitzweg und Göke 2002). Bezüglich der hormonellen Symptomatik finden sich gute Ansprechraten von bis zu 87% bei der HAE und bis 100% bei der HACE (Ruszniewski und Malka 2000).

2.1.6.6 Radiopeptidtherapie

Nicht radioaktiv markierte SMS-Analoga (s. Kap. 2.1.6.2, S. 18) sind sehr effektiv in der symptomatischen Therapie und verbessern so die Lebensqualität der Patienten. Die Wirkung auf das Tumorwachstum ist allerdings sehr eingeschränkt. Für Patienten mit einer metastasierten Tumorerkrankung, die chirurgisch nicht mehr heilbar ist, stellt die Radiopeptidtherapie (PRRT) die zurzeit effektivste und nebenwirkungsärmste Behandlungsmöglichkeit dar. Konventionelle Chemotherapie, externe Radiotherapie oder auch verschiedene Kombinationen dieser Methoden sind insbesondere bei metastasierten Dünndarm-NET wenig effektiv und zeigen häufig beachtliche Nebenwirkungen. Eine ausführliche Besprechung dieser Therapieoption befindet sich auf Seite 29, Kapitel 2.3.4.

2.2 Somatostatinrezeptoren

2.2.1 Somatostatin

Somatostatin (SST) ist ein natürlich vorkommendes zyklisches Peptidhormon mit verschiedensten Funktionen. 1973 wurde SST das erste Mal aus dem Hypothalamus isoliert und nachgewiesen, dass es die Ausschüttung von Wachstumshormon (GH) hemmt (Brazeau et al. 1973). Es kommt in zwei Formen vor: SST-14 und SST-28, das am N-Terminus verlängert ist. In besonders hohen Konzentrationen kommen SST-synthetisierende Zellen im ZNS und im peripheren Nervensystem, dem Gastrointestinaltrakt und im Pankreas vor. Außerdem lässt sich SST in verschiedensten Immun- und Tumorzellen nachweisen (Patel 1999, Reubi et al. 2001).

Neben der Regulation der Ausschüttung von GH ist SST auch an vielen anderen physiologischen Regulationsmechanismen beteiligt. Seine exokrine, endokrine, parakrine und autokrine Funktion äußert sich im Gastrointestinaltrakt in der Inhibition der neuroendokrinen Hormonsekretion und der Sekretion von Speicheldrüsen, Magen, Dünndarm, Pankreas und Leber. Zudem hat es Einfluss auf die glatte Muskulatur und vermindert damit die motorische Aktivität von Magen, Gallenblase und Darm. Als Neurotransmitter wirkt SST im Gehirn außerdem als potenter Inhibitor der Sekretion von Dopamin, Thyreotropin-releasing Hormon (TRH), Corticotropin-releasing Hormon (CRH) und Thyreotropin (TSH) und hat dadurch auch einen Effekt auf Schilddrüse, Nebennieren und Nieren (Patel 1999, Prasad et al. 2007, Ardill 2008).

2.2.2 Somatostatinrezeptor-Subtypen

Die physiologischen Effekte von SST werden über spezifische membrangebundene Rezeptoren realisiert, die 1978 das erste Mal von Schonbrunn und Tashjian beschrieben wurden. Bislang konnten sechs Subtypen der Somatostatinrezeptoren (SSTR) identifiziert werden, SSTR 1, 2A, 2B, 3, 4 und 5 (Taniyama et al. 2005). Subtyp 2A und 2B sind Spleißvarianten, bisher wurde jedoch nur die 2A-Variante in menschlichem Gewebe gefunden (Fischer et al. 2008). Alle sechs Rezeptoren weisen den typischen Aufbau G-Protein-gekoppelter Rezeptoren auf, verfügen über sieben Transmembrandomänen und werden auf fünf verschiedenen Chromosomen kodiert. Das N-terminale Segment befindet sich extrazellulär und ist verantwortlich für die Erkennung und Bindung des Liganden, während der intrazellulär gelegene C-Terminus die Signalweiterleitung ins Zellinnere vermittelt (Patel 1999). Diese erfolgt bei allen sechs Rezeptortypen über die Hemmung der Adenylatcyclase. SSTR 2 - 5 sind außerdem regulierend mit K^+ -Kanälen,

SSTR 1 und 2 mit spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanälen und SSTR 1 zusätzlich mit Na^+/H^+ -Austauschern assoziiert (Taniyama et al. 2005).

2.2.3 Vorkommen

SSTR-Subtypen konnten in variabler Dichte u.a. in Gehirn, Hypophyse, Gastrointestinaltrakt, Pankreas, Nebennieren, Schilddrüse, Nieren, Endothel- und Immunzellen identifiziert werden (Reubi et al. 1992, Reisine und Bell 1995, Reubi et al. 2001). Die SSTR-Expression wurde in physiologischem Gewebe und Tumorgewebe intensiv untersucht und viele Erkenntnisse gehen dabei auf die Arbeiten von Reubi et al. zurück. So konnte u. a. gezeigt werden, dass die meisten NET den Subtyp 2A überexprimieren. Tabelle 2.6 gibt einen Überblick über verschiedene Tumore und deren bevorzugte SSTR-Expression.

Tumorart	SSTR-Subtypen
Gastroenteropankreatische NET	SSTR 1, SSTR 2 , SSTR 5
Neuroblastom	SSTR 2
Meningiom	SSTR 2
Mammakarzinom	SSTR 2
Medulloblastom	SSTR 2
Lymphom	SSTR 2 , SSTR 5
Nierenzellkarzinom	SSTR 2
kleinzelliges Bronchialkarzinom	SSTR 1, SSTR 2 , SSTR 3
Hepatom	SSTR 2
Prostatakarzinom	SSTR 1
Sarkom	SSTR 1 , SSTR 2, SSTR 4
Non-funktionelles Hypophysenadenom	SSTR 1, SSTR 2, SSTR 3 , SSTR 5
Magenkarzinom	SSTR 1 , SSTR 2 , SSTR 5
Phäochromozytom	SSTR 1 , SSTR 2 , SSTR 5
nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom	–
medulläres Schilddrüsenkarzinom	–
Gangliom	–

(modifiziert nach Prasad et al. 2007)

Tabelle 2.6: Tumore mit SSTR-Expression (dominierender Subtyp fett gedruckt)

2.2.4 Nachweismethoden

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, SSTR morphologisch im Gewebe nachzuweisen. Während die *In-Situ-Hybridisierung* die mRNA, nicht aber das eigentliche Protein darstellt, gibt es mit der *Autoradiographie* eine Methode, mit der auch die Rezeptorbindungsstelle beurteilbar ist. Diese Methode überzeugt zwar durch ihre hohe Spezifität und Sensitivität, kann aber nur eine geringe Auflösung vorweisen (Reubi 2004). Seit der Entwicklung der *Rezeptor-Immunhistochemie* steht eine Methode zur Verfügung, die durch ihre hohe Auflösung besticht und durch die Verwendung eines spezifischen Antikörpers charakterisiert ist, der die membrangebundenen Rezeptoren in Formalinfixiertem Gewebe präzise erkennt (Reubi 2007). Mittlerweile stehen selektive Antikörper zur Verfügung, die v.a. auf die Arbeiten von Schulz et al. zurück gehen, sodass z.B. die SSTR2A-Expression mit dem monoklonalen Kaninchen-Antikörper UMB-1 auch in der Routinediagnostik untersucht werden kann (Fischer et al. 2008).

2.2.5 SSTR in GEP-NET

Da GEP-NET eine Gruppe von Tumoren sind, die sehr häufig SSTR überexprimieren, bildet diese Überexpression die molekulare Basis für eine Reihe von klinischen Untersuchungen, symptomatischen Therapien, in vivo-Diagnostik und Radionuklidtherapie und hilft bei der prognostischen Einschätzung (Reubi 2004). Dafür ist es jedoch nicht nur notwendig zu wissen, ob ein Tumor positiv oder negativ ist, sondern es werden auch Angaben über die Dichte, Verteilung und das Subtyp-Profil benötigt. GEP-NET können in bis zu 80-100% der Fälle SSTR exprimieren und verfügen meist über eine hohe Dichte an SSTR. Die häufige homogene Ausprägung der Rezeptoren auf den Tumorzellen bildet die Grundlage der rezeptorvermittelten Radionuklidtherapie. Außerdem konnte die SSTR-Expression in Zusammenhang mit dem Differenzierungsgrad gebracht werden: Gut differenzierte Tumore exprimieren häufiger SSTR als schlecht differenzierte (Reubi et al. 1990a). GEP-NET verfügen oft über mehr als einen SSTR-Subtyp. SSTR 2 erfährt dabei die häufigste Ausprägung, gefolgt von SSTR 1 und 5, während SSTR 3 seltener vorkommt und SSTR 4 in vielen Fällen völlig fehlt (Reubi 2003). Verschiedene Tumore exprimieren aber auch Subtypen in anderen Häufigkeiten. Weiterhin gibt es Unterschiede in der Lokalisation der SSTR innerhalb der Zellen. Während SSTR 2A ein membranständiger Rezeptor ist, sind SSTR 1, 3 und 5 überwiegend intrazellulär lokalisiert (Kulaksiz et al. 2002). Auch im Internalisierungsverhalten gibt es Unterschiede: Nach der Bindung eines Liganden internalisieren SSTR 2A und 3 viel besser als SSTR 1. Beim SSTR 5 wird neben der Internalisierung auch noch eine massive zusätzliche Rekrutierung von Rezeptoren aus intrazellulären Speichern

an die Membran bewirkt (Reubi 2003). Tabelle 2.7 fasst die Haupteigenschaften der SSTR-Expression zusammen.

Rezeptormerkmal	Eigenschaften
Inzidenz	80 - 100%
Dichte	überwiegend hoch
Verteilung	überwiegend homogen
Expression	gut differenziert > schlecht differenziert
Subtyp	SSTR 2A \gg SSTR 1 = SSTR 5 > SSTR 3 \gg SSTR 4
Lokalisation	SSTR 2A membranständig SSTR 1, 3 und 5 intrazellulär
Internalisierung	SSTR 2A und 3 besser als SSTR 1 Aktivierung des SSTR 5 bewirkt Rekrutierung

(modifiziert nach Reubi 2007)

Tabelle 2.7: Merkmale der SSTR-Expression in GEP-NET

2.3 Nuklearmedizinische Methoden

Konventionelle, überwiegend morphologisch orientierte bildgebende Verfahren wie Sonographie, CT oder MRT (s. Kap. 2.1.5.4) sind von großer Bedeutung für die genaue anatomische Lokalisation sowie die Anzahl- und Größenbestimmung der Tumorherde, sie geben jedoch keinen Aufschluss hinsichtlich der funktionellen Tumoreigenschaften, die für Prognose und Therapieentscheidung oftmals bestimmend sind. Nuklearmedizinische Methoden nehmen deshalb in Diagnostik, Therapie und Prognoseabschätzung der NET einen wichtigen Stellenwert ein.

2.3.1 Somatostatinanaloga

Der Nachweis der Überexpression von SSTR auf der Zelloberfläche von NET führte Mitte der 1980er-Jahre zur Entwicklung einer Reihe von nuklearmedizinischen Methoden, die diese Überexpression für die Diagnostik und Therapie nutzen.

Die fünf SSTR-Subtypen binden SST-14 und SST-28 mit nanomolarer Affinität. Die klinische Anwendbarkeit von Somatostatin ist jedoch begrenzt durch die kurze systemische Halbwertszeit von weniger als drei Minuten und der Notwendigkeit zur intravenösen Applikation. Um eine therapeutische Wirkung zu erreichen, wurden Somatostatinanaloga (SMS-Analoga) entwickelt, welche selektiv an SSTR binden und eine längere Halbwertszeit besitzen. Die derzeit verfügbaren SMS-Analoga wie *Octreotid* und *Lanreotid* besitzen eine hohe Bindungsaffinität zu SSTR 2A und in abnehmendem Maße zu SSTR 5 und 3, sie haben jedoch eine geringe bzw. keine Affinität zu SSTR 1 und 4 (Reubi et al. 2000a). Sie können bei der Therapie eine Symptomkontrolle und radioaktiv markiert eine Hemmung des Tumorwachstums erzielen (Kulaksiz et al. 2002); (s. Kap. 2.1.6.2, S. 18). Daneben existieren noch weitere radioaktiv markierbare SMS-Analoga mit z. T. anderem Affinitätsprofil zu den SSTR-Subtypen, wie z. B. das vor kurzem entwickelte *Pasireotid*, das eine hohe Affinität zu den Subtypen 1 - 3 und 5 aufweist und derzeit in klinischen Studien Anwendung findet (Plöckinger und Wiedenmann 2007). Eine Übersicht über eine Auswahl an SMS-Analoga und deren Bindungsaffinitäten gibt Tabelle 2.8.

SMS-Analoga werden nicht nur zur Therapie und Symptomatikkontrolle eingesetzt, sondern haben sich auch zur Lokalisationsdiagnostik des Primärtumors und der Metastasen durchgesetzt. Zur diagnostischen Verwendung mittels Somatostatinrezeptorzintigraphie werden sie an DTPA (Diäthylen-triamin-pentaessigsäure) gebunden. Dieses wiederum wird mit $^{111}\text{Indium}$ oder einem anderen Radioisotop markiert, welches Gammastrahlung emittiert und sich deshalb zur Ganzkörper-Lokalisationsdiagnostik

SSTR-Subtyp	SST-14	Octreotid	Lanreotid	Pasireotid
1	0.93±0.12	280±80	180±20.0	9.30±0.10
2	0.15±0.02	0.38±0.08	0.54±0.08	1.00±0.10
3	0.56±0.17	7.10±1.40	14±9.0	1.50±0.30
4	1.40±0.40	>1000	230±40.0	>100
5	0.29±0.04	6.30±1.00	17±5.0	0.16±0.10

Angaben als *half maximal inhibitory concentration* IC-50 (nmol/l)

(modifiziert nach Plöckinger und Wiedenmann 2007)

Tabelle 2.8: Bindungsaffinitäten der SMS-Analoga zu den SSTR-Subtypen

mittels einer Gammakamera verwenden lässt. Auch ^{99}Tc -markierte SMS-Analoga werden erfolgreich zur Diagnostik eingesetzt. Wesentliche Vorteile sind die deutlich verbesserte Bildqualität, besonders der SPECT-Aufnahmen, kürzere Untersuchungszeiten und die einfache und kostengünstige Herstellung (Rufini et al. 2006).

Die nächste Generation von SMS-Analoga, wie z.B. DOTA-TOC (1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid) zeichnete sich durch eine höhere Bindungsaffinität aus und wurde mit ^{111}In markiert zur Szintigraphie und mit ^{90}Y markiert zur Radiorezeptorthherapie eingesetzt. Der Ersatz der Alkohol-Gruppe am C-terminalen Ende des Peptides durch eine Carboxyl-Gruppe resultierte in dem Peptid DOTA-D-Phe¹-Tyr¹-Thr¹-Octreotid (DOTA-TATE), welches bis dahin die höchste Affinität zu SSTR 2A aufwies. Die dritte Generation von SMS-Analoga, wie z.B. DOTA-NOC (DOTA-1-Nal³-Octreotid), das durch den Austausch einer Aminosäure an Position 3 entstand, zeichnet sich durch eine sehr hohe Affinität für SSTR 2A und eine höhere Affinität als die bisher eingesetzten Analoga für SSTR 3 und SSTR 5 aus. Sie können als *Pansomatostatinanaloga* bezeichnet werden, da sie nahezu alle Subrezeptoren erfassen. Neuere, noch in der präklinischen Entwicklung befindliche Somatostatinanaloga sind DOTA-NOC-ATE und DOTA-BOC, die mit ^{111}In markiert eine hohe Affinität für die Rezeptorsubtypen 2, 3 und 5 sowie eine geringere Affinität für SSTR 4 aufweisen.

Eine aktuelle Studie von Ginj et al. (2006) könnte einen Paradigmenwechsel einläuten. Darin konnte gezeigt werden, dass markierte SSTR 2A- und SSTR 3-Antagonisten, obwohl sie nicht internalisiert werden, eine größere Anzahl von SSTR markieren und damit einen höheren Uptake erreichen als bisher verwendete Agonisten wie Octreotid. Es scheint, dass ein Agonist zwar eine starke Internalisierung bewirkt, aber an eine geringere Anzahl von „high-affinity“-Rezeptoren bindet. SSTR-Antagonisten könnten daher einen weiteren Fortschritt in Diagnostik und Therapie darstellen.

2.3.2 Somatostatinrezeptorszintigraphie

Die Somatostatinrezeptorszintigraphie (SRS) mit ^{111}In -DTPA-OC (^{111}In -Octreotid, Octreoscan) gilt derzeit noch als Goldstandard in Diagnostik, Staging und Follow-up von Patienten mit NET (Prasad et al. 2007). Die überwiegende Mehrzahl der NET und vor allem deren Metastasen kann mittels SRS nachgewiesen werden, insbesondere auch dann, wenn Ultraschalldiagnostik, CT und MRT unauffällig sind (Baum und Hofmann 2004). Die Sensitivitäten liegen (außer beim Insulinom) bei über 90%. Die Möglichkeit einer Ganzkörperdiagnostik stellt einen weiteren Vorteil dieses Verfahrens dar.

Auch sehr kleine Primärtumore oder Metastasen $< 1\text{ cm}$ können szintigraphisch detektiert werden, weswegen dieses Verfahren den morphologisch bildgebenden Verfahren überlegen ist. Die Grundlage bildet die Überexpression von SSTR (Scherübl et al. 2003). Szintigraphische Aufnahmen werden als Ganzkörperszintigramme üblicherweise 4-6 h, 20-26 h, 44-50 h und evtl. 72-120 h nach Injektion angefertigt, eine Emissionscomputertomographie (ECT oder SPECT) erfolgt meist 24 h p. i. (Baum und Hofmann 2004).

2.3.3 Somatostatin-Rezeptor-PET/CT

Die Verwendung von SMS-Analoga wie DOTA-TOC, DOTA-NOC oder DOTA-TATE, die mit Positronen-emittierenden Radionukliden markiert wurden (z.B. ^{68}Ga , ^{64}Cu), hat bei Einsatz der PET/CT im Vergleich zur SRS sogar noch deutlich höhere Sensitivitäten und Spezifitäten ergeben (Gabriel et al. 2007, Putzer et al. 2009).

Die PET/CT ist ein Untersuchungsverfahren, das durch die Kombination der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) mit integrierter Mehrschicht-CT ein Höchstmaß an diagnostischer Information ermöglicht. Mit ihr können morphologische (CT) und funktionelle (PET) Informationen in einem einzigen Untersuchungsgang dargestellt werden. Mit den daraus entstehenden Fusionsbildern ist eine genaue Zuordnung funktioneller Auffälligkeiten zu den anatomischen Strukturen möglich. Im Gegensatz zu herkömmlichen Verfahren der Nuklearmedizin, wie der SPECT, ermöglicht die PET quantitative Messungen und besitzt eine deutlich bessere Auflösung und höhere Empfindlichkeit, bedingt durch die physikalischen Eigenschaften der Positronenstrahler (Baum 2007, Beer und Schwaiger 2007).

Es existiert eine Vielzahl von PET-Radiopharmazeutika. Am weitesten verbreitet ist ^{18}F -FDG (^{18}F -Fluordesoxyglukose), das den Glukosemetabolismus der Zellen darstellt.

Tumore mit geringer Proliferationsrate und geringem Glukosemetabolismus werden allerdings nur selten erfasst (Adams et al. 1998c, Nanni et al. 2006), bei Patienten mit hohem Ki-67-Index ($> 20\%$) wird FDG jedoch routinemäßig eingesetzt. Deshalb ist die FDG-PET als alleiniges Verfahren für die NET-Diagnostik unzureichend. Adams und Mitarbeiter (1998b) verglichen die FDG-PET mit der SRS und dem Ki-67-Index und konnten zeigen, dass nur GEP-NET mit hohem Ki-67-Index, also hoher Proliferationsrate und schlechter Prognose, eine erhöhte FDG-Aufnahme aufwiesen und in der SRS oft negativ waren. Deshalb kommt der FDG-PET bei NET eine prognostische Wertigkeit zu.

Neben ^{18}F -FDG gibt es eine Reihe anderer Tracer, mit denen Parameter wie Blutfluss und Blutvolumen, Hypoxie, Proliferation und Apoptose dargestellt werden können. Im Folgenden soll jedoch nur auf den in dieser Studie verwendeten und für die NET-Diagnostik relevanten Positronenemitter ^{68}Ga eingegangen werden.

^{68}Ga (^{68}Ga) ist ein exzellenter Positronenemitter (89% Positronenemission, 3,2% Gammaemission). Die lange Halbwertszeit des Mutternuklids ^{68}Ge (270 Tage) ermöglicht eine Anwendung des ^{68}Ga -Generators für einen Zeitraum von neun bis zwölf Monaten. Das Generatorsystem findet weltweit zunehmend Anwendung.

Die ^{68}Ga -Somatostatin-Rezeptor-PET/CT (^{68}Ga -SMS-R-PET/CT) ist derzeit aufgrund der sehr hohen Empfindlichkeit und des extrem hohen Tumorkontrasts mit einer hervorragenden Bildqualität bereits 30 min p.i. das sensitivste bildgebende Verfahren zum Nachweis von NET (Baum und Hofmann 2004). In mehreren Studien konnte zunächst die Überlegenheit von ^{68}Ga -DOTA-TOC im Vergleich zu ^{111}In -Octreotid SPECT gezeigt werden (Hofmann et al. 2001). 2007 zeigten Antunes et al. in einer Intraindividual-Studie die Überlegenheit von ^{68}Ga -DOTA-NOC gegenüber ^{68}Ga -DOTA-TOC auf. In der Vergleichsstudie zwischen ^{68}Ga -DOTA-NOC und ^{18}F -DOPA-PET/CT von Ambrosini et al. (2008) wurde deutlich, dass ^{68}Ga -DOTA-NOC auch dem ^{18}F -DOPA in der Detektion von GEP-NET überlegen ist. Die aktuellen Daten von Prasad et al. (2010) zur Diagnostik von 59 Patienten mit CUP-NET heben die Bedeutung der ^{68}Ga -DOTA-NOC-PET/CT hervor: im Vergleich zur ^{111}In -Octreotid-Szintigraphie hatte die ^{68}Ga -DOTA-NOC-PET/CT eine 20% höhere Detektionsrate in der Diagnostik von Patienten mit CUP-NET.

Die Untersuchungszeit für eine Ganzkörper-PET/CT beträgt ca. 60 - 90 min, während die Octreotidszintigraphie sich über zwei Tage erstreckt. Es ist eine Detektion von Tumoren $< 1\text{ cm}$ möglich, während die ^{111}In -Octreotidszintigraphie für den Nachweis von Tumoren $< 1,5\text{ cm}$ weniger geeignet ist. Durch die hohe Sensitivität ist die Menge

an appliziertem Tracer weitaus geringer als die Mengen an Kontrastmittel, die z. B. für eine MRT notwendig sind. Nebenwirkungen fehlen daher (Beer und Schwaiger 2007). Weitere Vorteile sind die Möglichkeit der Quantifizierung und die geringere Strahlenexposition im Vergleich zur Octreotidszintigraphie, weshalb sich das PET-Verfahren besonders auch für Verlaufskontrollen unter Therapie eignet.

Aber nicht nur zur Detektion und zum Staging von NET ist die PET mit ^{68}Ga markierten SMS-Analoga hilfreich. Durch die nichtinvasive Darstellung der SSTR 2-Expression kann beurteilt werden, ob die Patienten für SSTR 2-spezifische Therapieansätze geeignet sind, z. B. eine Somatostatin- oder Radionuklidtherapie mit ^{90}Y -DOTA-TOC. Dadurch wird eine prätherapeutische Patientenselektionierung ohne die Notwendigkeit einer invasiven bioptischen Abklärung möglich. Zudem kann die ^{86}Y -DOTA-TOC-PET zur Dosimetrie vor einer Radionuklidtherapie verwendet werden. Hierbei werden anhand der PET-Daten der Traceruptake und die Verweildauer der Aktivität in den einzelnen Organen bestimmt und zusammen mit volumetrischen CT-Datensätzen zur Berechnung der Dosisverteilung verwendet. Schließlich kann eine Response-Evaluation nach Beginn einer Therapie erfolgen, um Nonresponder möglichst frühzeitig von Respondern zu differenzieren.

2.3.4 Nuklearmedizinische Therapieprinzipien - PRRT

Die Entdeckung der Überexpression von SSTR auf neuroendokrinen Tumorzellen führte nicht nur dazu, dass mit der SRS und PET/CT heute eine effektive Diagnostik zur Verfügung steht, sondern sie war auch die Voraussetzung für die Entwicklung neuer Therapieprinzipien, die diese Überexpression ausnutzen. Die zielgerichtete *Peptidrezeptorvermittelte Radionuklidtherapie (PRRT)* entstand aus der Überlegung heraus, das hohe Tumor-zu-Hintergrundverhältnis, welches bei der SRS erreicht werden kann, für eine Therapie mit Radiopharmaka zu nutzen. Diese Therapieoption gewinnt zunehmend an Bedeutung: in rund einem Viertel der bisher behandelten Patienten konnte eine Tumorreduktion um 50% erreicht werden, schwere Nebenwirkungen sind selten und die Behandlung ist im Allgemeinen gut verträglich (Forrer 2008).

Die im letzten Jahrzehnt am häufigsten verwendeten Radionuklide für die PRRT sind Yttrium (^{90}Y), Lutetium (^{177}Lu) und vereinzelt auch Indium (^{111}In). Diese benötigen eine Konjugation mit einem Chelator, an den das Peptid gebunden ist, um einen stabilen Komplex zu erreichen. Die Radionuklide emittieren unterschiedliche Partikel mit verschiedenen Energien, die einen antiproliferativen Effekt auf die Tumorzellen haben und über jeweils unterschiedliche Reichweiten im Gewebe verfügen. ^{111}In emittiert z.B. nicht nur die zur szintigraphischen Darstellung genutzten γ -Strahlen, sondern

auch *Auger-Elektronen*. Diese „low-energy“ Partikel haben nur eine Reichweite von 0,02-10 μm und sind therapeutisch kaum wirksam. Im Gegensatz dazu ist ^{90}Y ein reiner β -Strahler mit hoher Partikelenergie. Der therapeutische Effekt liegt daher in einer Tiefe von bis zu 12 mm.

Für die PRRT von NET ist v.a. der SSSTR 2A von Bedeutung. Dieser Subtyp zeichnet sich durch eine Internalisierung in die Zelle aus, nachdem ein Ligand gebunden hat. Deshalb bleibt die Radioaktivität, welche mit dem Vektor an die Tumorzelle gebracht wurde, stabil in der Zelle und erlaubt somit eine lang anhaltende Wirkung (Reubi et al. 2000b, Forrer 2008). Diese radioaktive Markierung ermöglicht eine interne Strahlentherapie, die spezifisch und selektiv unter weitgehender Schonung des gesunden Gewebes durchgeführt werden kann und dabei auch disseminierte Metastasen erfasst (Baum et al. 2004).

Derzeitig ist *Octreotid* wegen seines Affinitätsprofils (s. Tab. 2.8 auf S. 26) das bevorzugte SMS-Analogon (Reubi et al. 2000a). Modifikationen von Octreotid, wie die Verbindung mit einem Chelator oder einem Radionuklid, können Veränderungen im Affinitätsprofil bewirken. Diese Erkenntnis führte zu einer ganzen Reihe von Peptidentwicklungen mit unterschiedlichen Bindungsaffinitäten zu den SSSTR-Subtypen (Reubi et al. 2000a).

Zunächst verwendeten Anthony et al. (2002) und Valkema et al. (2002) sehr hohe Radioaktivitäten von ^{111}In -Octreotid zur Therapie, welches damals als Radiodiagnostikum zur Verfügung stand. Patienten mit progredienten NET zeigten unter der Therapie eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptome unter Reduktion der Hormonfreisetzung der Tumore und der Tumorzellproliferation. Mittlerweile hat sich jedoch der Einsatz von β -Strahlern durchgesetzt (Baum et al. 2004). Diese weisen im Tumorgewebe eine wesentlich höhere Reichweite als ^{111}In auf. Als Therapienuklid eignet sich ^{90}Y besonders gut, da es als reiner β -Strahler Partikel mit einer hohen maximalen Energie (2,27 MeV) und einer Reichweite im Gewebe von über 10 mm emittiert. Eine Reihe von Studien mit ^{90}Y -DOTA,Tyr3-Octreotid (^{90}Y -DOTATOC), ^{90}Y -DOTA-Lanreotid und ^{90}Y -DOTA,Tyr3-Octreotate wurden seither publiziert, welche die therapeutische Effektivität der ^{90}Y -markierten Radionuklide belegen (Paganelli et al. 2001, Chinol et al. 2002, Waldherr et al. 2002).

Im Jahr 2003 wurden dann Behandlungen mit dem mittelenenergetischen β -Emitter ^{177}Lu durchgeführt (Kwekkeboom et al. 2003). Zurzeit laufen verschiedene Therapiestudien mit beiden Radionukliden sowie mit verschiedensten Peptiden und Behandlungsprotokollen (Forrer et al. 2005, Kwekkeboom et al. 2008).

Die hohe Wirksamkeit der Radiopeptidtherapie findet zunehmend mehr Anerkennung, allerdings ist die klinische Anwendung insgesamt immer noch eher selten. Ein wichtiger Grund dafür ist, dass es bis heute kein industriell hergestelltes radioaktiv markiertes Somatostatinanalogon zur Radiopeptidtherapie gibt (Forrer 2008).

3 Ziele der Arbeit

Gastroenteropankreatische neuroendokrine Tumore (GEP-NET) sind eine sehr heterogene Gruppe von Tumoren, die oft erst in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert werden. Die Diagnosestellung wird durch die geringe Größe der Herde oftmals erschwert und konventionelle bildgebende Verfahren wie Sonographie, CT oder MRT gelangen schnell an ihre Grenzen. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit und des extrem hohen Tumorkontrasts gilt die Rezeptor-PET/CT mit ^{68}Ga Gallium markierten Somatostatinanaloga (SMS-R-PET/CT) als Goldstandard zur Diagnostik von GEP-NET, für die seit Mitte der 1980er Jahre bekannt ist, dass sie Somatostatinrezeptoren (SSTR) überexprimieren. Diese Erkenntnis ist mittlerweile nicht nur wichtiger Bestandteil der Diagnostik, sondern bietet auch einen wesentlichen Vorteil in der symptomatischen und tumorreduktiven Therapie dieser Tumorentität.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten die Frage klären, ob eine Korrelation besteht zwischen der im SMS-R-PET/CT anhand von Standardized Uptake Values (SUV) gemessenen SSTR-Dichte auf GEP-NET und/oder deren Metastasen und der danach immunhistochemisch an operativ gewonnenem Tumorgewebe bestimmten Intensität der Expression der fünf SSTR-Subtypen.

Vor dem Hintergrund der wenigen und teilweise widersprüchlichen Publikationen zum SSTR-Status von GEP-NET hatte die Arbeit außerdem das Ziel, die genaue immunhistochemische Quantifizierung der Verteilung aller fünf SSTR-Subtypen auf neuroendokrinem Tumorgewebe zu dokumentieren und damit eine Aussage zur Wahrscheinlichkeit des Ansprechens auf eine Therapie mit Somatostatinanaloga zu ermöglichen (im Bezug zur Darstellung im SMS-R-PET/CT). Weiterhin galt es die Frage zu klären, ob möglicherweise Zusammenhänge zwischen klinischen bzw. histopathologischen Merkmalen von GEP-NET und dem SSTR-Status bestehen.

Aufgrund der derzeitigen Verwendung von sehr unterschiedlichen immunhistochemischen Scores für die Bewertung von Tumorpräparaten war eine zusätzliche Zielsetzung der Arbeit, die Zuverlässigkeit der verwendeten Scores (IRS und Her2/neu) zu überprüfen.

4 Methodik

4.1 Materialien und Substanzen

4.1.1 Substanzen zur Immunhistochemie

Albumin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Ammoniak	Merck, Darmstadt, Deutschland
Chromogen	BioGenex, San Ramon, USA
Citratpuffer-Bestandteile	Merck, Darmstadt, Deutschland
Depex-Eindeckmittel	SERVA Elektrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
Ethanol	Nordbrand, Nordhausen, Deutschland
LABEL (Streptavidin-Peroxidase)	BioGenex, San Ramon, USA
LINK (Anti-Rabbit IgG)	BioGenex, San Ramon, USA
Mayer´s Hämatoxylin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Methanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
PBS-Bestandteile	Merck, Darmstadt, Deutschland
Rinderserumalbumin (RSA)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
SSTR 2A-Antikörper	Epitomics, Burlingame, CA, USA
SSTR 1, 3, 4, 5-Antikörper	Gramsch Laboratories, Schwabhausen, Deutschland
VectaMount AQ H-5501	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA
Wasserstoffperoxid 30%	Merck, Darmstadt, Deutschland
Xylol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Young´s Eosin Y	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland

4.1.2 Geräte und sonstige Materialien

Deckgläser	Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland
Laborwaage	Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Magnetrührer	Schott Instruments GmbH, Mainz, Deutschland
Mikroskop Axio Imager A1	Zeiss, Jena, Deutschland
Mikrowelle CB 1271	Bomann, Kempen, Deutschland
Objektträger Superfrost® plus	Thermo Scientific, Menzel, Braunschweig, Deutschland
pH-Labormessgerät pH 211	Hanna Instruments, Kehl, Deutschland
Rotationsmikrotom HM 335 E	Microm, Walldorf, Deutschland
Shandon-Färbesystem	Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA

4.1.3 Lösungen und Standardpuffer

10 x PBS (Phosphat gepufferte Salzlösung) pH 7,4

8 g NaCl

0,2 g KCl

1,44 g Na₂HPO₄

0,24 g K₂HPO₄

auf 1000 ml mit Aqua bidest. auffüllen

PBS/RSA 1% (Rinderserumalbumin)

5 g RSA

50 ml PBS

450 ml Aqua bidest.

Stammlösung A (0,1 M) für Citratpuffer

21,01 g Zitronensäure (C₆H₈O₇ x H₂O)

in 1000 ml Aqua bidest. lösen

Stammlösung B (0,1 M) für Citratpuffer

29,41 g Natriumcitrat (C₆H₅Na₃O₇ x H₂O)

in 1000 ml Aqua bidest. lösen

Citrat-Puffer (0,01 M, pH 6,0)

18 ml Stammlösung A

82 ml Stammlösung B

900 ml Aqua bidest.

pH-Wert mit 2 N Natriumhydroxid (NaOH) einstellen

Ammoniak-Lösung zur Hämatoxylin-Gegenfärbung

1,4 ml NH_3 25%

in 250 ml Aqua bidest.

Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung 0,15%

3 ml Wasserstoffperoxid (H_2O_2) 30%

60 ml Methanol (CH_3OH) 100%

4.2 Anfertigung der Gewebeschnitte

Von den chirurgisch entfernten NETs bzw. deren Metastasen wurde ein repräsentativer Anteil der untersuchten Gewebeproben in der Pathologie in der Zentralklinik Bad Berka routinemäßig in Paraffin eingebettet und zur Dokumentation bzw. für Forschungszwecke archiviert. Diese Paraffinblöcke bildeten die Grundlage der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten immunhistochemischen Untersuchungen. Mit einem Rotationsmikrotom wurden Gewebeschnitte mit einer Dicke von $4\text{ }\mu\text{m}$ angefertigt, auf einen Objektträger überführt und anschließend luftgetrocknet.

4.3 Immunhistochemie

4.3.1 Methode

Immunhistochemische Techniken dienen der Identifikation von antigenen Strukturen mittels spezifischer Antikörper. Der Nachweis der SSSTR-Subtypen erfolgte über die Streptavidin-Biotin-Methode, die zu den indirekten immunhistochemischen Nachweismethoden zählt. Dabei wird der Primärantikörper gegen das zu untersuchende Antigen, das in diesem Fall der SSSTR-Subtyp ist, über einen Sekundärantikörper (LINK) nachgewiesen. Dieser ist biotinyliert und wird deshalb von einem Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (LABEL) erkannt. Die in diesem Enzymkomplex gebundene Peroxidase kann daraufhin mit dem 3-Amino-9-Ethyl-Carbazol (AEC), einem Chromogen, reagieren und eine Rotfärbung der Struktur ermöglichen.

Zur besseren Beurteilung der Präparate erfolgte außerdem eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Die Gewebeschnitte wurden anschließend mit VectaMount-Lösung und Deckgläschen eingedeckt.

Primärantikörper Als spezifische Primärantikörper waren durch die Arbeitsgruppe von Schulz et al. bereits Anti-Peptid Antikörper gegen das Carboxy-terminale Ende der einzelnen SSTR-Subtypen entwickelt worden, die spezifisch ihren Zielrezeptor erkennen und mit keinem anderen Protein oder SSTR-Subtyp interagieren (Schulz et al. 1998a, Schulz et al. 1998b, Schulz et al. 2000, Kulaksiz et al. 2002, Fischer et al. 2008). Hersteller der Peptide sind die Firma Gramsch Laboratories, Schwabhausen für SSTR 1, 3, 4 und 5 und die Firma Epitomics, Burlingame, Ca, USA für den SSTR 2A.

Die Peptide wurden durch High-Performance Liquid Chromatographie (HPLC) aufgereinigt und nach Kopplung an Hemocyanin in einer 1:1 Verdünnung mit Freund's Adjuvans zur Antiseraproduktion in Kaninchen injiziert (Schulz et al. 1998b).

Antigen-Demaskierung In formalinfixiertem Gewebe kommt es zur Ausbildung von Aldehydvernetzungen, welche eine Antigen-Antikörper-Bindung verhindern können. Das Antigen ist *maskiert*. Deshalb sind verschiedene Verfahren entwickelt worden, um eine Demaskierung zu erreichen und die Zahl der Antikörperbindungsstellen und damit die Signalintensität zu erhöhen.

Neben der enzymatischen hat sich vor allem eine hitzeinduzierte Demaskierung seit Anfang der 90er Jahre durchgesetzt (Shi et al. 1991). Dabei wird eine handelsübliche Mikrowelle mit 600-800W eingesetzt. Die Verwendung eines Citratpuffers (pH 6,0) erzielt eine zusätzliche Verbesserung des Ergebnisses.

Blockade der endogenen Peroxidase Die Farbreaktion erfolgte über das Chromogen 3-Amino-9-Ethyl-carbazol (AEC). Dieses wird durch eine Streptavidin-gekoppelte Peroxidase umgesetzt, die an das antikörpergebundene Biotin (Ziege-Anti-Kaninchen-IgG) gekoppelt ist. Das biotinylierte Ziege-Anti-Kaninchen-IgG bindet an den primären Kaninchen-Antikörper, der das darzustellende Antigen erkennt. Da die Enzymaktivität der Gewebe durch die Formalinfixierung aber nicht vollständig zerstört wird, ist gleichzeitig auch eine endogene Peroxidaseaktivität im Gewebe vorhanden. Das Substrat-Chromogen-System kann jedoch nicht zwischen endogener und der methodisch zugeführten Peroxidase unterscheiden. Deshalb ist eine Blockade der endogenen Peroxidase notwendig, um Hintergrundfärbungen und falsch positive Ergebnisse zu vermeiden. Diese erfolgt über eine 45-minütige Inkubation des Präparates in einer 0,15% igen Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung (Hittmair und Schmid 1989).

4.3.2 Durchführung der Immunhistochemie

Folgendes Protokoll wurde zur immunhistochemischen Darstellung der SSTR-Subtypen angewandt:

A) Entparaffinierung und Demaskierung der Rezeptoren Die Entparaffinierung findet mittels Xylol, eine Rehydrierung durch eine absteigende Alkoholreihe und die Demaskierung durch Mikrowellenbehandlung statt. Durch eine anschließende pH-Pufferung wird eine Absättigung unterschiedlicher Ladungen des Gewebes erreicht und damit unspezifische Bindungen verhindert.

Es erfolgt zunächst eine Einsortierung der Objektträger in Glas-Küvetten. Folgende Arbeitsschritte finden statt:

1. Entparaffinierung der Gewebeschnitte
 - dreimalige Inkubation für jeweils 20 min in Xylol (100%)
2. Entfernung des Xylols
 - dreimalige Inkubation für jeweils 20 min in Ethanol (99,8%)
3. Blockierung der endogenen Gewebeperoxidase
 - Inkubation in einer 0,15% igen Wasserstoffperoxid-Methanol-Lösung für 45 min
4. Rehydrierung mittels absteigender Alkoholreihe
 - a) 95% Ethanol 1 min
 - b) 95% Ethanol 1 min
 - c) 80% Ethanol 2 min
 - d) 70% Ethanol 2 min
 - e) Aqua bidest. 5 min
 - f) Aqua bidest. 5 min
5. Demaskierung der Rezeptoren durch Mikrowellenbehandlung
 - Umsortierung der Objektträger in mit Citratpuffer (pH 6,0) gefüllte mikrowellengeeignete Plastikkuvetten
 - a) 8 min kochen in einer Mikrowelle (600 W) (ab dem Beginn des Kochvorgangs)
 - b) 4 min abkühlen

- c) 4 min kochen (ab dem Beginn des Kochvorgangs)
 - d) 4 min abkühlen
 - e) 4 min kochen (ab dem Beginn des Kochvorgangs)
 - f) abkühlen, bis handwarme Temperatur erreicht ist (ca. 20 min)
6. pH-Pufferung und damit Absättigung unterschiedlicher Ladungen innerhalb des Gewebes und Verhinderung unspezifischer Bindungen
- Inkubation der Gewebeschnitte für 5 min in PBS/RSA (1%)

B) Antikörperbindung und Färbung (Streptavidin-Biotin-Methode) Die nächsten Arbeitsschritte erfolgen mit Hilfe eines Shandon[®]-Färbesystems. In diesen Systemen erleichtert ein kapillärer Spalt das Auftragen von Lösungen. Die Objektträger werden zunächst einsortiert. Anschließend folgen:

1. pH-Pufferung
 - Auftragen von 1500 ml PBS/RSA (1%)
2. Bindung des Antikörpers an die SSTR-Subtypen
 - Auftragen von 300 μ l Antikörper
 - abgedeckte Inkubation über Nacht bei 4 °C
3. Waschen der Schnitte und damit Entfernung unspezifisch oder nicht gebundener Antikörper
 - zweimaliges Auftragen von jeweils 1500 ml PBS/RSA (1%)
4. Bindung des Sekundärantikörpers
 - Auftragen von 150 μ l LINK (1:20 Verdünnung mit PBS/RSA (1%))
 - Inkubation für 20 min
5. Waschen der Schnitte
 - Auftragen von 1500 ml PBS/RSA (1%)
6. Bindung des Streptavidin-Peroxidase-Komplexes
 - Auftragen von 150 μ l LABEL (1:20 Verdünnung mit PBS/RSA (1%))
 - Inkubation für 20 min
7. Waschen der Schnitte
 - Auftragen von 1500 ml PBS/RSA (1%)
8. Färbung der antikörpergebundenen Bereiche
 - Auftragen von 150 μ l der Chromogen-Lösung 3-Amino-9-Ethyl-Carbazol (AEC)
 - Inkubation für 15 min

9. Wiederholung der Färbung der antikörpergebundenen Bereiche, um eine Signalverstärkung zu erreichen
 - Auftragen von 150 μ l der Chromogen-Lösung 3-Amino-9-Ethyl-carbazol (AEC)
 - Inkubation für 15 min
10. Waschen und Stoppen der Färbereaktion
 - Auftragen von 1500 ml Aqua bidest.

Der immunhistochemische Nachweis der SSTR-Subtypen durch spezifische Antikörper und die Streptavidin-Biotin-Methode sind damit abgeschlossen.

C) Hämatoxylin-Gegenfärbung Um eine bessere Orientierung bei der Beurteilung der Präparate zu haben, werden die Gewebeschnitte anschließend mit Hämatoxylin gegengefärbt. Dazu muss zunächst eine Umsortierung der Objektträger aus dem Shandon-Färbesystem in Glas-Färbeküvetten erfolgen.

1. Waschen
 - 2 x für jeweils 1 min in Aqua bidest.
2. Gegenfärbung der Zellkerne
 - Inkubation der Schnitte in Mayer´s Hämatoxylin für 6 min
3. Waschen
 - Spülen der Präparate in mehrfach gewechseltem Aqua bidest. für 2,5 min
4. Hämatoxylin-Bläuung
 - 5 x tauchen der Präparate in Ammoniaklösung
5. Waschen
 - Spülen der Präparate in mehrmals gewechseltem Aqua bidest. für 2,5 min

D) Eindecken der Präparate Die Präparate werden anschließend mit VectaMount AQ H-5501-Lösung und Deckgläschen eingedeckt.

4.4 Übersichtsfärbung mit Hämatoxylin-Eosin

Zu Vergleichszwecken und zur späteren besseren Orientierung bei der Auswertung wurde neben der immunhistochemischen Nachweismethode außerdem eine reine HE-Färbung der Gewebeschnitte durchgeführt. Diese erfolgte nach folgendem Protokoll:

1. Entparaffinierung der Gewebeschnitte
 - dreimalige Inkubation für jeweils 20 min in Xylol (100%)
2. Entfernung des Xylols
 - dreimalige Inkubation für jeweils 20 min in Ethanol (99,8%)
3. zweimaliges Waschen in Aqua bidest. für jeweils 2 min
4. Anfärbung der Zellkerne im Hämatoxylinbad für 30 min
5. Waschen in Aqua bidest. für 1 min
6. Bläuung in Leitungswasser für 20 min
7. Waschen in Aqua bidest. für 2 min
8. Gegenfärbung im Eosinbad für 8 min
9. Waschen
 - 2 x in Aqua bidest. für jeweils 1 min
 - 10 x in Aqua bidest. tauchen
10. Dehydrieren
 - 10 x tauchen in Ethanol
 - Inkubation für 5 min in Ethanol
11. Überführung in Xylol
 - dreimalige Inkubation in Xylol für jeweils 5 min
12. Eindecken mit Deckgläschen und Depex-Eindeckmittel

4.5 Auswertung

4.5.1 Immunhistochemie

Die semiquantitative Auswertung und Begutachtung der immunhistochemisch gefärbten Gewebeschnitte erfolgte lichtmikroskopisch nach dem Immunreaktiven Score (IRS) nach Remmele und Stegner und in Analogie zum Scoresystem für Her2/neu. Der IRS wurde zwar zunächst für den immunhistochemischen Östrogenrezeptornachweis in Mammakarzinomgewebe entwickelt (Remmele und Stegner 1987), hat sich jedoch auch für die Bewertung von neuroendokrinem Tumorgewebe als sinnvoll erwiesen. Der Her2-Score geht auf den von der Firma *DakoCytomation* seit 1999 angebotenen *Hercep-TestTM* zurück, ein immunhistochemischer Test zum Nachweis des membranständigen

Rezeptors Her2 bei Mammakarzinomen. Die Bewertungsscores sind in Tabelle 4.1 und 4.2 dargestellt.

Prozentsatz positiver Zellen	× Färbeintensität	= IRS
0 = keine positiven Zellen	0 = keine Färbereaktion	0 - 12 Punkte
1 = < 10 % positive Zellen	1 = schwache Färbereaktion	
2 = 10 - 50 % positive Zellen	2 = mäßige Färbereaktion	
3 = 51 - 80 % positive Zellen	3 = starke Färbereaktion	
4 = > 80 % positive Zellen		

(modifiziert nach Remmele und Stegner 1987)

Tabelle 4.1: Immunreaktiver Score (IRS) nach Remmele und Stegner

Her2/neu-Score	Reaktionsmuster	Bewertung
0 +	keine Färbereaktion oder < 10 % positive Tumorzellen	negativ
1 +	> 10 % der Tumorzellen mit schwacher Färbereaktion	negativ
2 +	> 10 % der Tumorzellen mit mäßiger Färbereaktion	schwach positiv
3 +	> 10 % der Tumorzellen mit starker Färbereaktion	stark positiv

Tabelle 4.2: Score nach dem Her2/neu-System

Die Ermittlung des IRS orientierte sich an der Modifikation von McCarty et al. (1985), die nicht nur den vorherrschenden Grad der Färbeintensität berücksichtigt, sondern den Prozentsatz positiver Zellen jeder Färbeintensität mit einbezieht. Dadurch können falsch positive Ergebnisse relativiert werden. In der vorliegenden Analyse wurde, wie von Remmele und Stegner vorgeschlagen, immer der vorherrschende Intensitätsgrad verwendet (s. Bsp. 1 in Tab. 4.3). Bei einem Fall unter 50% wurden jedoch die zwei höchsten Färbeintensitäten bewertet, mit dem Prozentsatz positiver Zellen multipliziert und ein Mittelwert aus diesen beiden Punkten gebildet (s. Bsp. 2 in Tab. 4.3). In einem zweiten Schritt wurde der SS-TR-Status ausgehend von diesem 12-Punkte-Score (= IRS) nochmals mittels der IRS-Klassifikation eingeschätzt (s. Tab. 4.4).

Bsp. Nr.	Färbeintensität	PP-Zellen	Berechnung IRS
1	stark = 3	> 80% = 4	$3 \times 4 = 12$
2	stark = 3 mäßig = 2	30% = 2 30% = 2	$(3 \times 2 + 2 \times 2) : 2 = 5$
PP-Zellen: Prozentsatz positiver Zellen			

Tabelle 4.3: Beispiele für die Ermittlung des IRS

IRS	IRS-Klassifikation
0 – 1	0 = negativ
2 – 3	1 = positiv, schwache Expression
4 – 8	2 = positiv, mäßige Expression
9 – 12	3 = positiv, starke Expression

Tabelle 4.4: IRS-Klassifikation

In Anlehnung an die immunhistochemische Analyse von Volante et al. (2007) wurde v.a. bei der Auswertung des SSSTR2A der Aspekt der zytoplasmatischen bzw. membranständigen Färbung mit einbezogen – eine zytoplasmatische Färbung wurde generell niedriger eingestuft als die membranständige Färbung (s. Abb. 5.11, S. 50).

4.5.2 Molekulare Bildgebung (PET/CT)

Zusätzlich wurde in den präoperativ durchgeführten ^{68}Ga -SMS-R-PET/CT-Scans eine genaue Korrelation der operativ gewonnenen Tumorpräparate (anhand von Operations- und Pathologieberichten) und den im PET/CT nachgewiesenen Tumorbefunden durchgeführt. Danach erfolgte die Bestimmung der maximalen und mittleren *standardized uptake values* (SUV_{max} und SUV_{mean}), sowie der *molekularen Tumordurchmesser* (MTD = Größe des Herdbefundes im PET/CT) und der *molekulare Tumolvolumen* (MTV = $\text{SUV} \times \text{MTD}$). Die PET/CT-Bilder wurden an der *E.soft* Arbeitsstation (Siemens Medical Solutions) ausgewertet.

4.5.3 Klinische Angaben

Alle anderen klinischen Angaben sind den Pathologie- und CT-Befunden, sowie den Arztbriefen der Patienten der Zentralklinik Bad Berka entnommen.

4.5.4 Fehlerbetrachtung

Die Aussagefähigkeit der vorliegenden Arbeit wird zum einen durch mögliche Fehler eingeschränkt, die in der Methode der retrospektiven Analyse begründet sind, wie z.B. der unvollständigen oder ungenauen Dokumentation. Zum anderen unterliegt vor allem die immunhistochemische Auswertung semiquantitativen Merkmalen und einem subjektiven Bewertungsmaßstab, der die Vergleichbarkeit einschränkt. Um diese Fehlerquellen zu minimieren, erfolgte teilweise eine doppelte Bewertung der Präparate.

5 Ergebnisse

5.1 Allgemeine Patientendaten

Von den im Zeitraum von 2005 bis 2009 in der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie der Zentralklinik Bad Berka operierten Patienten mit GEP-NET, konnten 34 Patienten mit einer entsprechenden histopathologischen Befundung in die Studie eingeschlossen werden. Da von diesen Patienten teilweise mehrere Gewebe (Primärtumor und/oder Metastasen) vorlagen, wurden insgesamt 44 verschiedene Paraffin-Gewebeblöcke aufgearbeitet und immunhistochemisch untersucht. Eine eindeutige Zuordnung der Tumorgewebe mit den auf den präoperativ im PET/CT mit ^{68}Ga -DOTANOC oder ^{68}Ga -DOTATATE dargestellten Tumorlokalisationen konnte in 26 Fällen (61,9%) erreicht werden (s. Abb. 5.1).

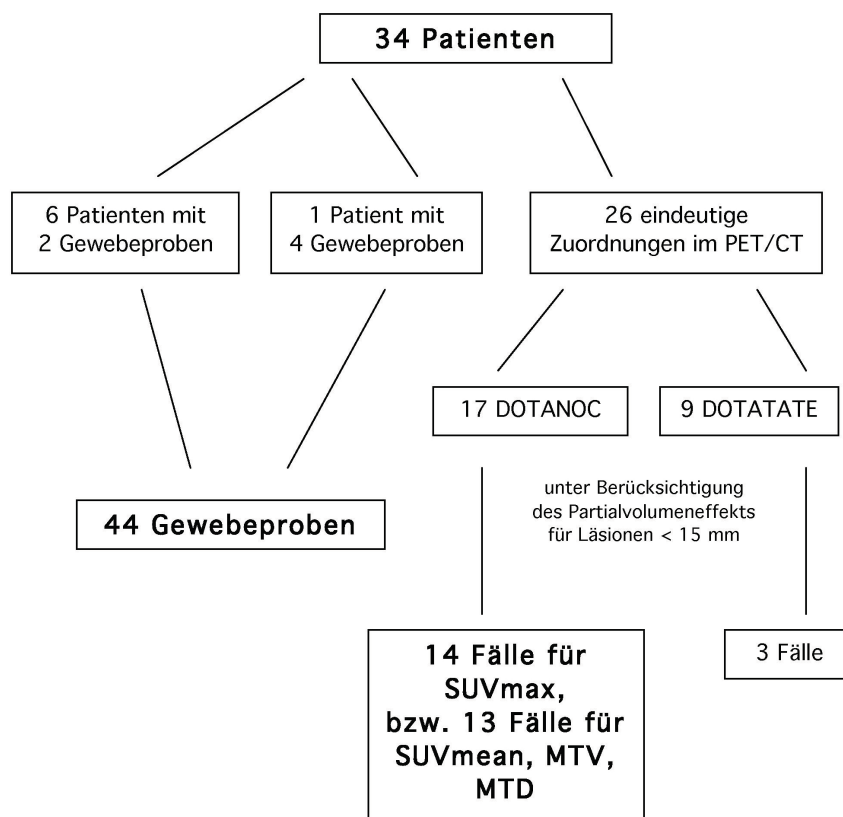


Abbildung 5.1: Überblick über die verwendeten Gewebeproben und PET/CTs

Das mediane Durchschnittsalter der 34 Patienten betrug zum Zeitpunkt der Operation 58 Jahre, mit einer Altersverteilung von 33 bis 82 Jahren (s. Abb. 5.2). Der Anteil der weiblichen und männlichen Patienten war mit 16:18 (= 47,1%:52,9%) gleichmäßig verteilt. Mit einer Spannweite von 16,6–30,8 kg/m² betrug der BMI im Mittel 23,6 kg/m².

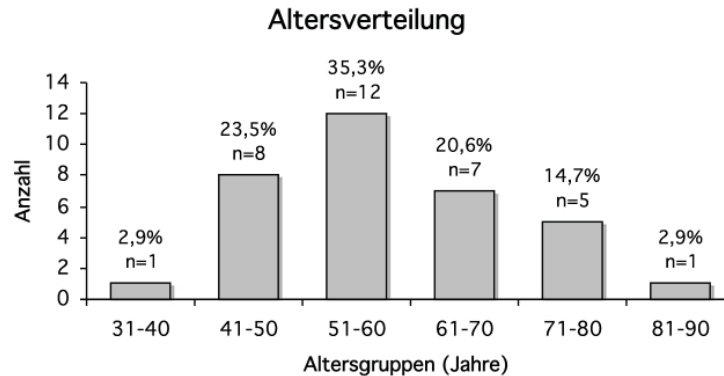


Abbildung 5.2: Altersverteilung der Patienten nach Altersgruppen

5.2 Klinische Daten

5.2.1 Tumorlokalisation

Die Primärtumorlokalisationen sind in Abb. 5.4 dargestellt. Die häufigste Lokalisation war mit 35,3% (n= 12) das Pankreas und das Ileum (29,4%, n= 10). CUP (14,7%, n= 5) und Lokalisationen wie Magen (8,8%, n= 3) und Appendix (3%, n= 1) waren dagegen selten. Bei 64,7% (n=22) der Patienten wurden Lebermetastasen nachgewiesen, bei 32,4% (n= 11) lag eine Peritonealkarzinose vor (s. Abb. 5.3).

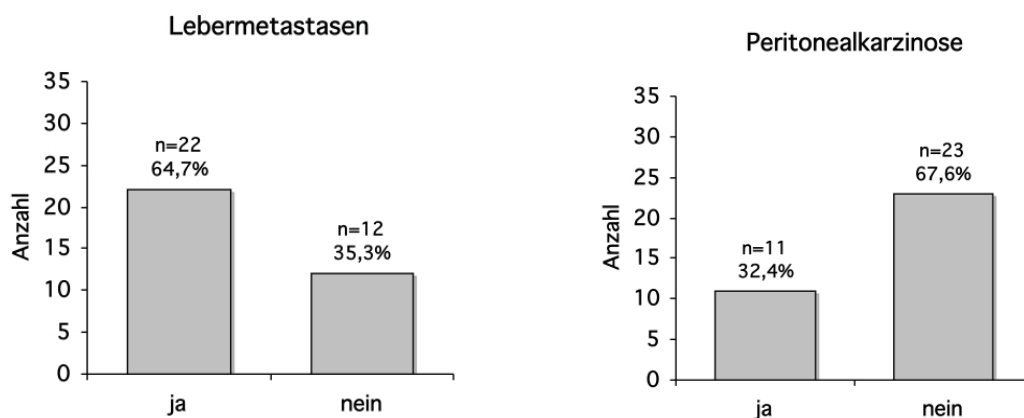


Abbildung 5.3: Häufigkeiten der diagnostizierten Lebermetastasen und Peritonealkarzinosen

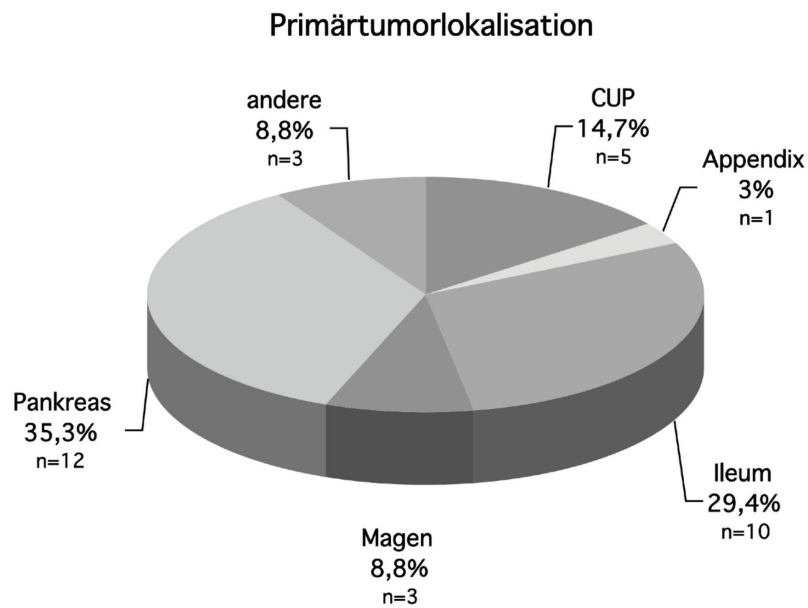


Abbildung 5.4: Verteilung der Primärtumorlokalisation

5.2.2 Klassifikation

Nach der TNM-Klassifikation der WHO befand sich die Mehrzahl der Patienten (58,8%, n= 20) bereits im T₄-Stadium. 70,6% (n= 24) hatten einen positiven Lymphknotenstatus und bei 82,4% (n= 28) wurde ein M₁-Stadium diagnostiziert (siehe Abb. 5.5).

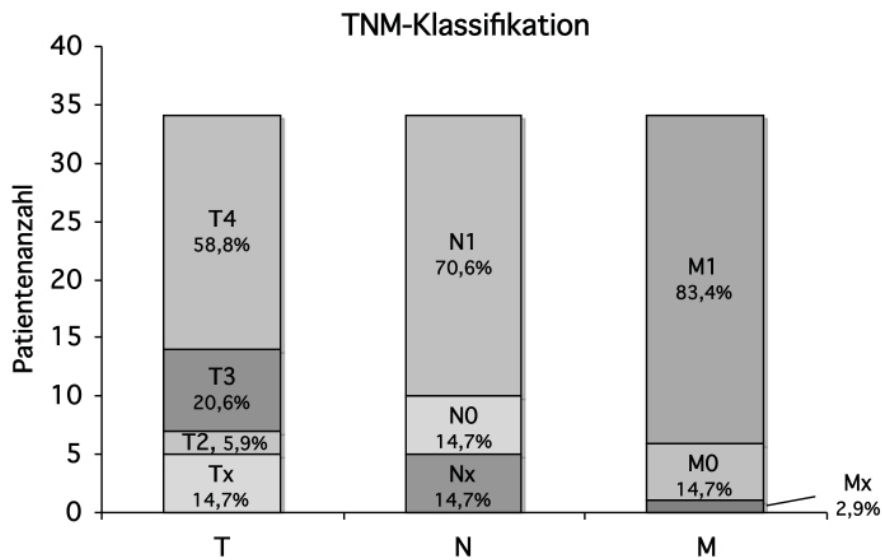


Abbildung 5.5: Initiales Tumorstadium nach WHO

5.2.3 Grading

Das Tumor-Grading ist in Abb. 5.6 dargestellt. Von 34 Patienten hatten 64,7% (n= 22) einen gut differenzierten Tumor (G2-Stadium; Ki-67: 3 - 20%), ein hochdifferenzierter Tumortyp (G1-Stadium; Ki-67: $\leq 2\%$) lag bei 20,6% (n= 7) vor und 14,7% (n= 5) hatten einen entdifferenzierten Tumor (G3-Stadium; Ki-67: $> 20\%$).

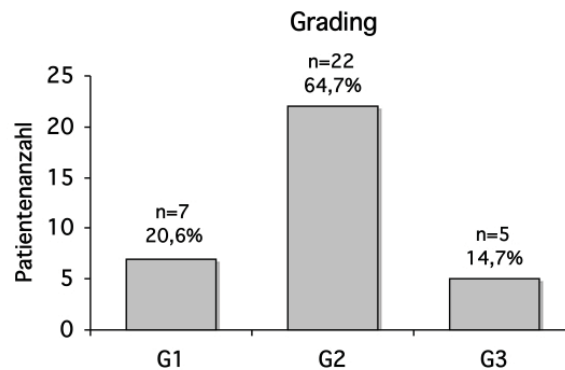


Abbildung 5.6: Tumordifferenzierung

5.2.4 Funktioneller Status

Ein funktionell aktiver GEP-NET lag bei 8,8% (n= 3) der Patienten vor. 91,2% (n= 31) der Tumore waren funktionell inaktiv (s. Abb. 5.7).

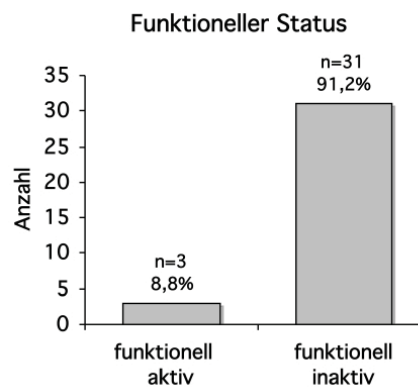


Abbildung 5.7: Funktioneller Status der GEP-NET

5.2.5 Karnofsky-Performance-Score

Eine Angabe zum Karnofsky-Score wurde bei 85,3% (n=29) der Patienten gemacht. Der Score betrug im Median 90% mit einer Spannweite von 30%–100%. Die Mehrzahl der Patienten (69%, n=20) hatte einen Karnofsky-Score von $\geq 90\%$, nur 10,3% (n=3) wiesen einen Wert $\leq 50\%$ auf (s. Abb. 5.8).

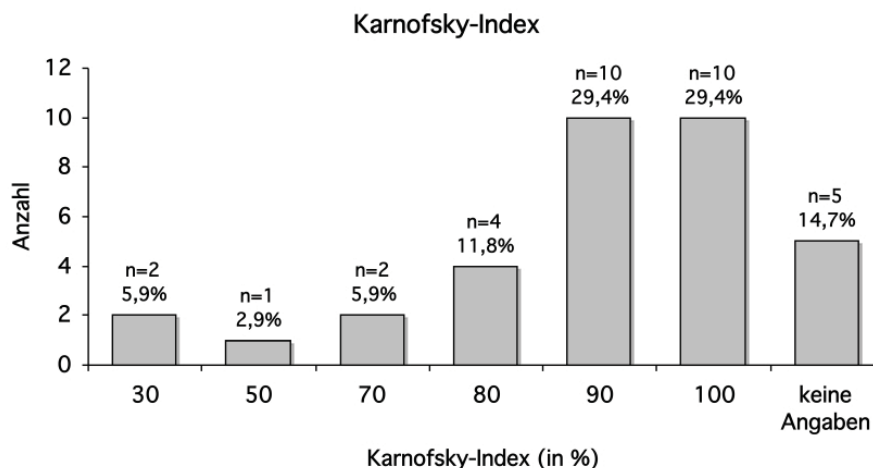


Abbildung 5.8: Karnofsky-Score der GEP-NET Patienten

5.3 Immunhistochemie

5.3.1 Chromogranin- und Synaptophysinfärbung

Bei 82,4% der Tumorproben der 34 Patienten (n=28) war eine CgA-Positivität nachweisbar. Weitere 8,8% (n=3) zeigten eine schwache Chromograninfärbung. Nur 8,8% der Tumore zeigten keine CgA-Expression.

Für Synaptophysin waren 82,4% der Tumore (n=28) positiv. Weitere 8,8% (n=3) zeigten eine schwache Synaptophysinfärbung, negativ waren nur 2,9% (n=1). Bei 5,9% (n=2) waren keine Angaben gemacht worden (s. Abb. 5.9).

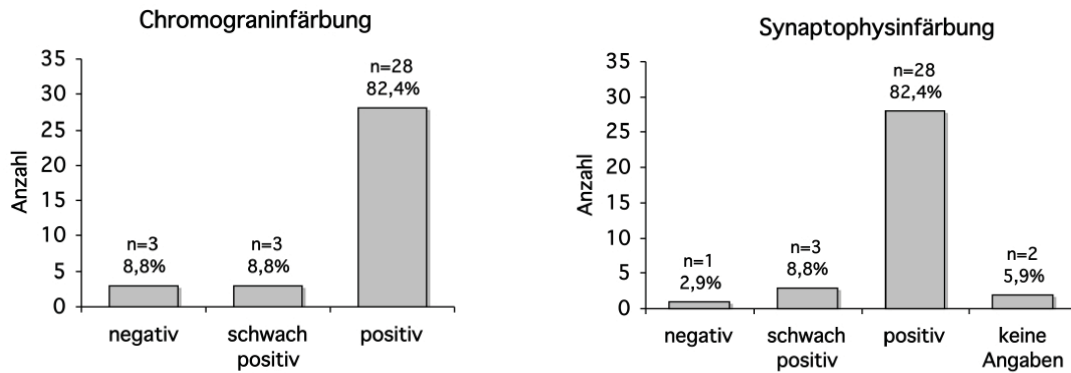


Abbildung 5.9: Chromogranin- und Synaptophysinfärbung

5.3.2 Ki-67-Index

Die Abbildung 5.10 enthält Angaben zum Ki-67-Index. 20,6% (n= 7) der Tumorproben hatten einen Ki-67-Index ≤ 2 , bei 64,7% der Tumore (n= 22) lag der Proliferationsindex unterhalb von 10% und ein Wert $> 10\%$ war bei 35,3% (n= 12) zu verzeichnen.

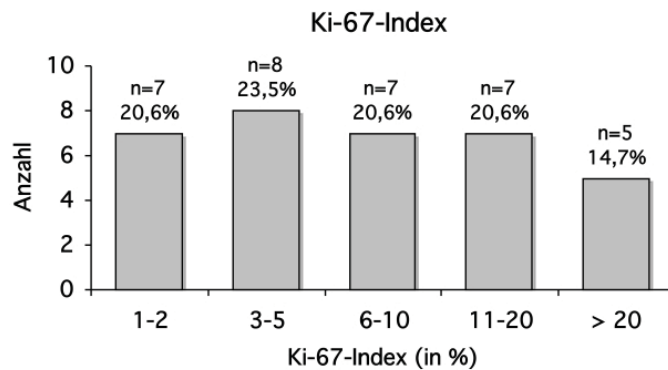


Abbildung 5.10: Proliferationsindex (Ki-67) der Tumore

5.3.3 Lichtmikroskopische Auswertung

Die 44 Gewebeblöcke wurden immunhistochemisch auf alle fünf SSSTR-Subtypen untersucht. In der lichtmikroskopischen Auswertung zeigte nur der SSSTR 2A eine membranständige Färbung. Bei allen anderen SSSTR-Subtypen war die Färbung homogen im Zytoplasma unter Aussparung des Zellkerns lokalisiert (s. Abb. 5.11).

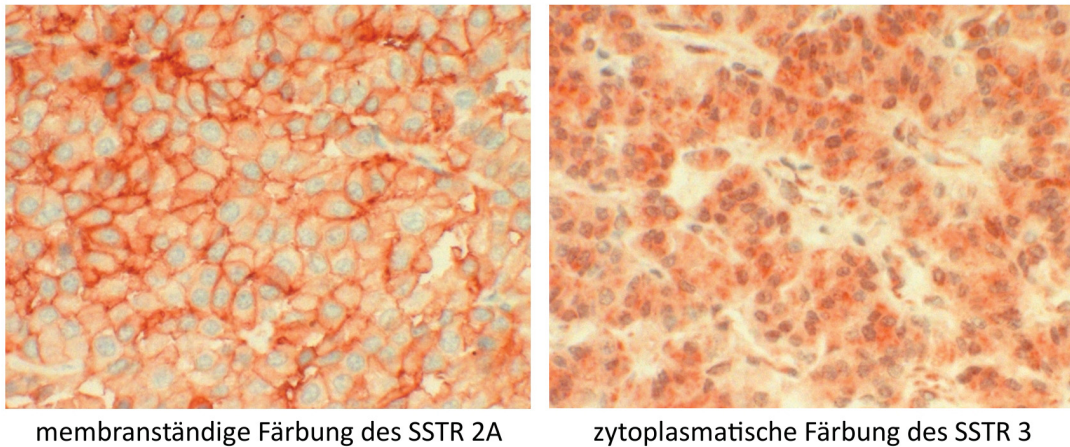


Abbildung 5.11: Darstellung von membranständiger und zytoplasmatischer Färbung (mikroskopischer Bildausschnitt von Präparat 2975/08)

Die Färbung des Tumorgewebes fiel durch ihre große Heterogenität auf, vor allem Randbereiche hatten in manchen Fällen eine deutlichere Färbung als innen liegende nekrotische Areale. In der Mehrzahl der Fälle zeigte sich jedoch eine gleichmäßige Immunreaktion. Tumorzellen kamen entweder als massive Cluster vor oder zeigten sich verstreut im umliegenden Gewebe, teils von fibrotischem Stroma umgeben, teils eingebettet in umliegendes gesundes Gewebe. Diese Heterogenität spiegelte sich auch im Wachstumsschema wieder, insuläre und trabekuläre Formen gleichförmiger Tumorzellen kamen genauso vor wie Mischtypen. Die Intensität der Färbung zwischen den Primärtumor-Präparaten und den Metastasen-Präparaten des selben Patienten stimmte in der Mehrzahl der Fälle gut überein. Schnellschnittuntersuchungen waren qualitativ prinzipiell minderwertiger.

5.3.4 SSTR-Expressionsmuster

Eine Bewertung der SSTR-Expression erfolgte nach dem Immunreaktiven Score nach Remmele und Stegner (IRS) und dem Schema für Her2/neu (s. Tab. 4.1 bis 4.4, S. 41 und S. 42). Wie aus Tabelle 5.1 hervorgeht, konnten für beide Scores unterschiedliche Häufigkeiten im Expressionsmuster festgestellt werden.

Expressionsmuster					Häufigkeit	
SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5	IRS	Her2/neu
–	+	+	–	–	7 (15,9%)	5 (11,4%)
+	+	+	–	+	7 (15,9%)	2 (4,5%)
+	+	+	+	–	6 (13,6%)	3 (6,8%)
+	+	+	+	+	5 (11,4%)	9 (20,5%)
–	+	+	+	+	3 (6,8%)	4 (9,1%)
–	+	+	+	–	3 (6,8%)	1 (2,3%)
–	+	–	–	–	2 (4,5%)	5 (11,4%)
–	–	+	–	–	2 (4,5%)	1 (2,3%)
–	+	+	–	+	2 (4,5%)	1 (2,3%)
+	–	+	+	+	1 (2,3%)	2 (4,5%)
+	+	–	+	+	1 (2,3%)	2 (4,5%)
+	–	–	–	–	1 (2,3%)	1 (2,3%)
–	–	+	+	+	1 (2,3%)	1 (2,3%)
–	+	–	+	–	1 (2,3%)	0
+	–	+	+	–	1 (2,3%)	0
+	+	+	–	–	1 (2,3%)	0
–	–	–	–	–	0	2 (4,5%)
–	–	+	+	–	0	1 (2,3%)
–	–	–	–	+	0	1 (2,3%)
+	–	–	+	+	0	1 (2,3%)
+	–	+	–	–	0	1 (2,3%)
+	+	–	–	–	0	1 (2,3%)

+: IRS-Klassifikation/ Her2-Score ≥ 2
–: IRS-Klassifikation/ Her2-Score ≤ 1

Tabelle 5.1: Expressionsmuster der SSTR-Subtypen

Für den IRS ergaben sich 16 verschiedene Expressionsmuster, bei denen vor allem die Konstellation SSTR 2A und 3 vorherrschte, bzw. SSTR 1, 2A, 3 und 5 positiv waren. In 81,8% der Fälle (n= 36) waren mindestens SSTR 2A und 3 nachzuweisen. Positiv für die SSTR-Subtypen 1, 2A und 3 waren 43,2% (n= 19). Mindestens drei Subtypen waren in 70,5% der Fälle (n= 31) vorhanden. Bemerkenswert ist, dass sich im IRS kein einziger Tumor für alle fünf Subtypen negativ darstellte.

Die Auswertung mit dem Her2-Score ergab 22 verschiedene Expressionsmuster. Die Konstellation, bei der alle fünf Subtypen nachzuweisen waren, überwog mit 20,5%.

Auch mit dem Her2-Score waren nur 4,5% der Fälle (n=2) für alle Subtypen negativ. 56,8% (n=25) waren mindestens für SSTR 2A und 3 positiv, 31,8% (n=14) für die Subtypen 1, 2A und 3. Mindestens drei Rezeptortypen zeigten sich in 59,1% (n=26) der Fälle. Eine Übersicht über die Teilergebnisse ist in Tabelle 5.2 zusammengefasst.

Einen Einblick in die vielfältigen Intensitäten und unterschiedlichen Konstellationen der SSTR-Expression bieten die Abbildungen 5.13, 5.14 und 5.15 (S. 58 - S. 60).

Subtyp-Konstellation	IRS	Her2
Anzahl der Expressionsmuster	16	22
vorherrschendes Expressionsmuster	2A und 3 pos., 1, 2A, 3 und 5 pos.	1, 2A, 3, 4 und 5 pos.
mindestens für SSTR 2A und 3 positiv	81,8%	56,8%
mindestens für 3 Subtypen positiv	70,5%	59,1%
für SSTR1, 2A und 3 positiv	43,2%	31,8%

Tabelle 5.2: Häufigkeitsverteilung einzelner Subtypen

5.3.5 Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen

Als positiv für den nachzuweisenden SSTR-Subtyp galt ein Tumor, der in der IRS-Klassifikation bzw. im Her2-Score ≥ 2 war. Alle Tumore mit einem Score ≤ 1 wurden als negativ für diesen SSTR gewertet. Die Tab. 5.3 und Abb. 5.12 geben einen Überblick über die Häufigkeitsverteilung der als positiv gewerteten SSTR-Subtyp-Färbungen.

Obwohl der SSTR 3 weniger häufig als der SSTR 2A in der IRS-Klassifikation als *positiv mit starker Expression* (Wertebereich 3) eingestuft werden konnte (s. Tab. 4.1 und 4.4 auf S. 41), erreichte er in der Summe eine größere Anzahl an positiven Fällen als der SSTR 2A. Damit ist nach dem IRS der SSTR 3 der am häufigsten exprimierte Subtyp, gefolgt von SSTR 2A > SSTR 4 > SSTR 1 > SSTR 5. Betrachtet man die Häufigkeitsverteilung mittels des Her2-Scores, ist der SSTR 2A mit 75% am häufigsten nachzuweisen, danach folgen SSTR 3 > SSTR 4 > SSTR 5 > SSTR 1.

	SSTR 1		SSTR 2A		SSTR 3		SSTR 4		SSTR 5	
	IRS- Klass.	Her2	IRS- Klass.	Her2	IRS- Klass.	Her2	IRS- Klass.	Her2	IRS- Klass.	Her2
Punktvergabe										
Minimum	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Maximum	2	3	3	3	3	3	2	2	2	3
Mittelwert	1,32	1,41	2,27	2,43	1,98	2,07	1,48	1,52	1,23	1,32
Positive Fälle										
Anzahl	21	22	38	33	39	31	22	24	20	23
Prozent	47,7	50	86,4	75	88,6	70,4	50	54,5	45,5	52,3

Tabelle 5.3: Häufigkeitsverteilung der als positiv gewerteten SSTR-Subtyp-Färbung

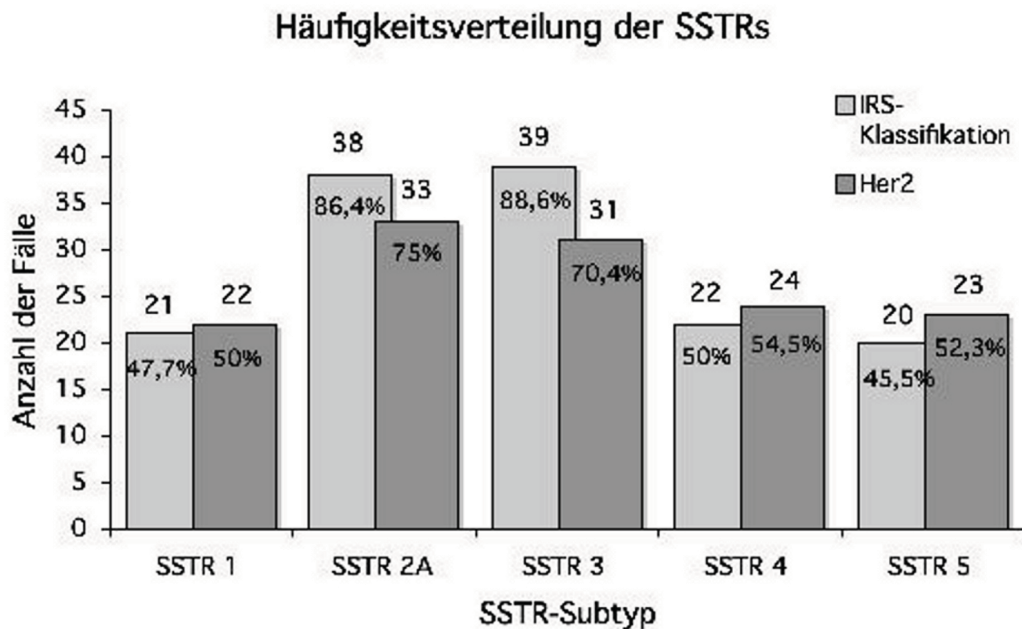


Abbildung 5.12: Häufigkeitsverteilung der als positiv gewerteten SSTR-Subtyp-Färbung

SSTR 1 Der IRS des SSTR 1 bewegte sich im unteren Bereich. Die höchste Punktzahl lag bei 6 und wurde nur von 13,6% der Fälle (n=6) erreicht. Mit 34,1% (n=15) wurde der Score 4 am häufigsten vergeben, sodass in der vom IRS abgeleiteten IRS-Klassifikation 47,4% (n=21) einen Score von 2 erhielten. Nach dem Her2-Score ergab sich eine ähnliche Einschätzung: 43,2% (n=19) erhielten die 2+ zugewiesen (siehe Tab. 5.4).

IRS		IRS-Klassifikation		Her2	
Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit
0	7 (15,9%)	0	7 (15,9%)	0+	7 (15,9%)
2,0	8 (18,2%)	1	16 (36,4%)	1+	15 (34,1%)
3,0	4 (9,1%)	2	21 (47,7%)	2+	19 (43,2%)
3,5	4 (9,1%)			3+	3 (6,8%)
4,0	15 (34,1%)				
6,0	6 (13,6%)				
positiv gesamt		21 (47,7%)		22 (50%)	

Tabelle 5.4: Häufigkeitsverteilung des SSTR 1

SSTR 2A Für den SSTR 2A ergab sich eine deutlich höhere Bewertung, als für alle anderen Subtypen (siehe Tab. 5.5).

IRS		IRS-Klassifikation		Her2	
Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit
2,0	2 (4,5%)	1	6 (13,6%)	1+	11 (25%)
3,0	4 (9,1%)	2	20 (45,5%)	2+	3 (6,8%)
4,0	5(11,4%)	3	18 (40,9%)	3+	30 (68,2%)
4,5	2 (4,5%)				
5,0	1 (2,3%)				
5,5	1 (2,3%)				
6,0	10 (22,7%)				
8,0	1 (2,3%)				
9,0	4 (9,1%)				
12,0	14 (31,8%)				
positiv gesamt		38 (86,4%)		33 (75%)	

Tabelle 5.5: Häufigkeitsverteilung des SSTR 2A

Charakteristisch für diesen Subtyp war außerdem eine deutlich membranständige Färbung. Im IRS reichte die Punktvergabe von 2,0 bis 12,0. Die Maximalpunktzahl wurde von 31,8% (n= 14) erreicht, am zweithäufigsten (22,7%, n= 10) konnten 6,0 Punkte vergeben werden. In der sich aus dem IRS ableitenden IRS-Klassifikation war auffällig, dass 86,4% der Fälle (n= 38) als positiv für den SSTR 2A gewertet werden konnten.

Auch nach dem Her2-Score erhielten überdurchschnittlich viele Tumorgewebe (75%, n=33) eine 2+ bzw. 3+ zugewiesen und galten damit als positiv.

SSTR 3 Der IRS des SSTR 3 (siehe Tab. 5.6) zeigte eine relativ gleichmäßige Verteilung über alle Punktwerte von 0 bis 12 mit einer Häufung bei den Scorepunkten 4 (25%, n=11), 6 (20,5%, n=9) und 8 (18,2%, n=8). Den Maximalwert von 12 Punkten erreichten nur 6,8% der Fälle (n=3). Die abgeleitete IRS-Klassifikation ergab deshalb auch eine deutliche Konzentration im 2er-Bereich: 75% der Fälle (n=33) erhielten die Bewertung 2 (mäßige Expression). 13,6% der Tumorproben (n=6) galten als positiv mit starker Expression (Wertebereich 3). Im Her2-Score war die Verteilung nicht ganz so eindeutig: 40,9% der Fälle (n=18) wurden mit 3+ bewertet, 29,5% (n=13) mit 2+ und 25% (n=11) mit 1+. Die Zahl der insgesamt als positiv bewerteten Proben lag jedoch bei beiden Scores über 70%.

IRS		IRS-Klassifikation		Her2	
Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit
0	2 (4,5%)	0	2 (4,5%)	0+	2 (4,5%)
2,0	2 (4,5%)	1	3 (6,8%)	1+	11 (25%)
3,0	2 (4,5%)	2	33 (75%)	2+	13 (29,5%)
4,0	11(25%)	3	6 (13,6%)	3+	18 (40,9%)
4,5	2 (4,5%)				
5,5	1 (2,3%)				
6,0	9 (20,5%)				
7,0	1 (2,3%)				
8,0	8 (18,2%)				
9,0	3 (6,8%)				
12,0	3 (6,8%)				
positiv gesamt		39 (88,6%)		31 (70,4%)	

Tabelle 5.6: Häufigkeitsverteilung des SSTR 3

SSTR 4 Über 80% der zugewiesenen IRS-Punktwerte beim SSTR 4 (siehe Tab. 5.7) lagen im Bereich ≤ 4 . Nur bei jeweils 9,1% der Tumorproben (n=4) konnten 6 bzw. 8 Punkte vergeben werden. Auffallend war die extreme Heterogenität der Färbungen innerhalb der Tumorproben in diesem unteren Bereich. Da bei der abgeleiteten IRS-Klassifizierung bereits der 4er-Wert mit zur mäßigen Expression gerechnet wird (Wertebereich 2), waren insgesamt 50% der Fälle (n=22) dieser Gruppe zugehörig. Von den

Proben wurden 47,7% (n=21) mit 1 bewertet. Die Verteilung nach dem Her2-Score sah ähnlich aus. Hier erhielten 54,5% der Tumorproben (n=24) den Scorewert 2+, während 43,2% (n=19) nur einen 1+-Wert erreichten.

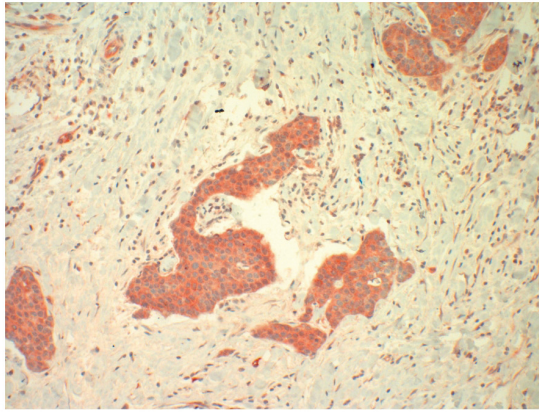
IRS		IRS-Klassifikation		Her2	
Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit
0	1 (2,3%)	0	1 (2,3%)	0+	1 (2,3%)
2,0	3 (6,8%)	1	21 (47,7%)	1+	19 (43,2%)
2,5	2 (4,5%)	2	22 (50%)	2+	24 (54,5%)
3,0	11 (25%)				
3,5	5 (11,4%)				
4,0	14 (31,8%)				
6,0	4 (9,1%)				
8,0	4 (9,1%)				
positiv gesamt		22 (50%)		24 (54,5%)	

Tabelle 5.7: Häufigkeitsverteilung des SSTR 4

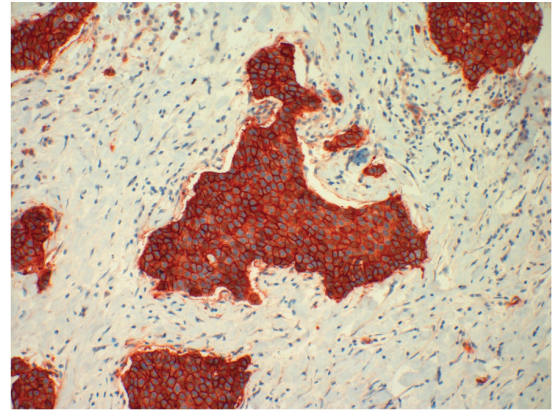
SSTR 5 Auch für den IRS des SSTR 5 (siehe Tab. 5.8) reichte die Punktvergabe nur von 0 bis 8, hier mit einem Maximum bei den Punkten 4 (25%, n=11), 2 (20,5%, n=9) und 0 (18,2%, n=8). Die darauf aufbauende IRS-Klassifikation zeigte, dass 45,5% (n=20) eine mäßige Expression aufwiesen (Wertebereich 2) und damit als positiv galten. Ähnliche Ergebnissen erreicht man mit dem Her2-Score. Auch hier erhielten 45,5% eine 2+-Bewertung. Bei weiteren 6,8% (n=3) konnte nach diesem Scoresystem 3+ vergeben werden.

Score	IRS	IRS-Klassifikation		Her2	
	Häufigkeit	Score	Häufigkeit	Score	Häufigkeit
0	8 (18,2%)	0	10 (22,7%)	0+	12 (27,3%)
1,0	2 (4,5%)	1	14 (31,8%)	1+	9 (20,5%)
2,0	9 (20,5%)	2	20 (45,5%)	2+	20 (45,5%)
3,0	3 (6,8%)			3+	3 (6,8%)
3,5	2 (4,5%)				
4,0	11 (25%)				
4,5	1 (2,3%)				
6,0	6 (13,6%)				
8,0	2 (4,5%)				
positiv gesamt		20 (45,5%)		23 (52,3%)	

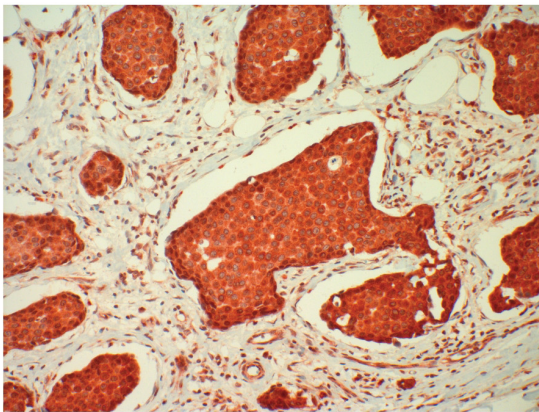
Tabelle 5.8: Häufigkeitsverteilung des SSTR 5



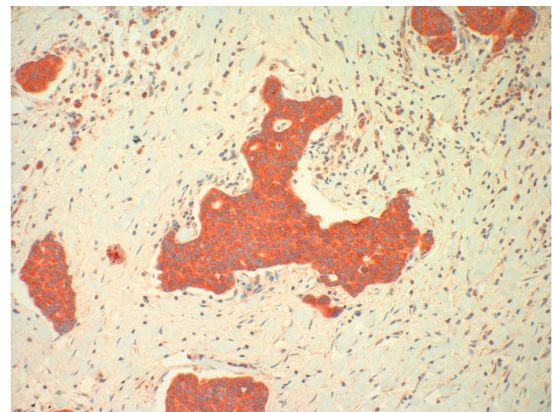
SSTR 1: IRS = 3,5; Her2 = 2+



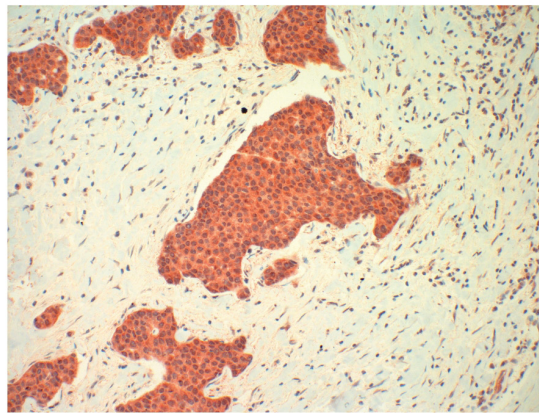
SSTR 2A: IRS = 12; Her2 = 3+



SSTR 3: IRS = 12; Her2 = 3

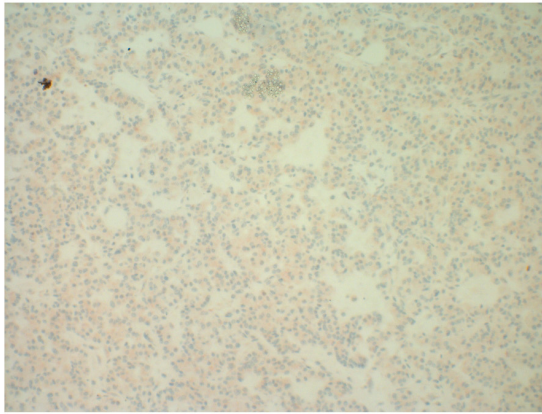


SSTR 4: IRS = 6; Her2 = 2+

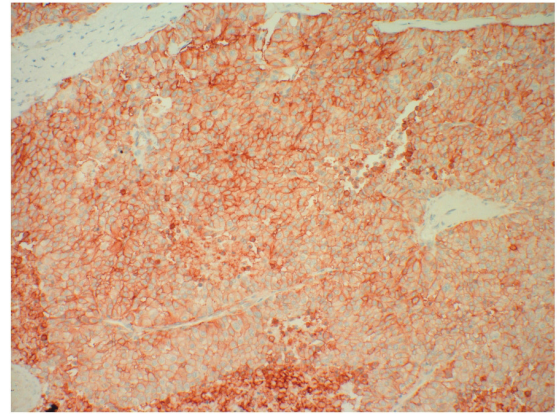


SSTR 5: IRS = 6; Her2 = 3+

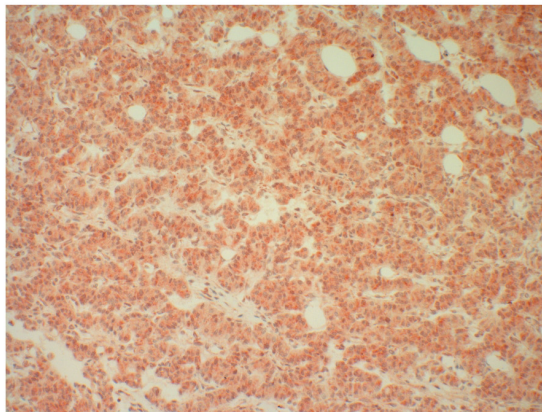
Abbildung 5.13: Mikroskopische Bilder (200fach) SSTR 1 bis 5 der Präparatnummer 10829/07



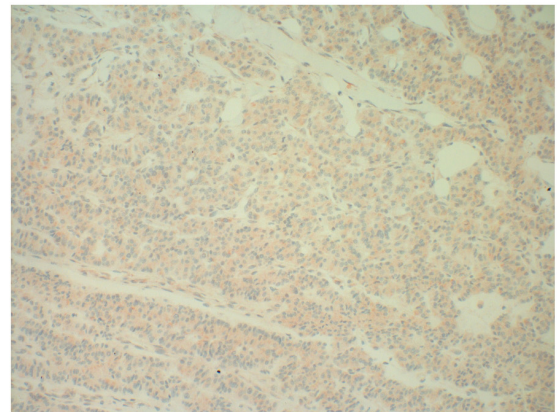
SSTR 1: IRS = 0; Her2 = 0+



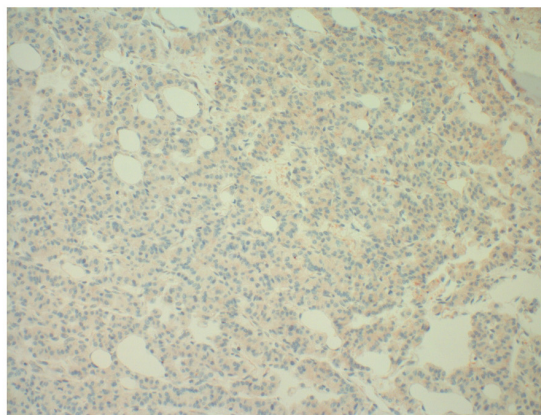
SSTR 2A: IRS = 6; Her2 = 3+



SSTR 3: IRS = 4; Her2 = 1+



SSTR 4: IRS = 0; Her2 = 0+



SSTR 5: IRS = 1; Her2 = 0+

Abbildung 5.14: Mikroskopische Bilder (200fach) SSTR 1 bis 5 der Präparatnummer 2975/08

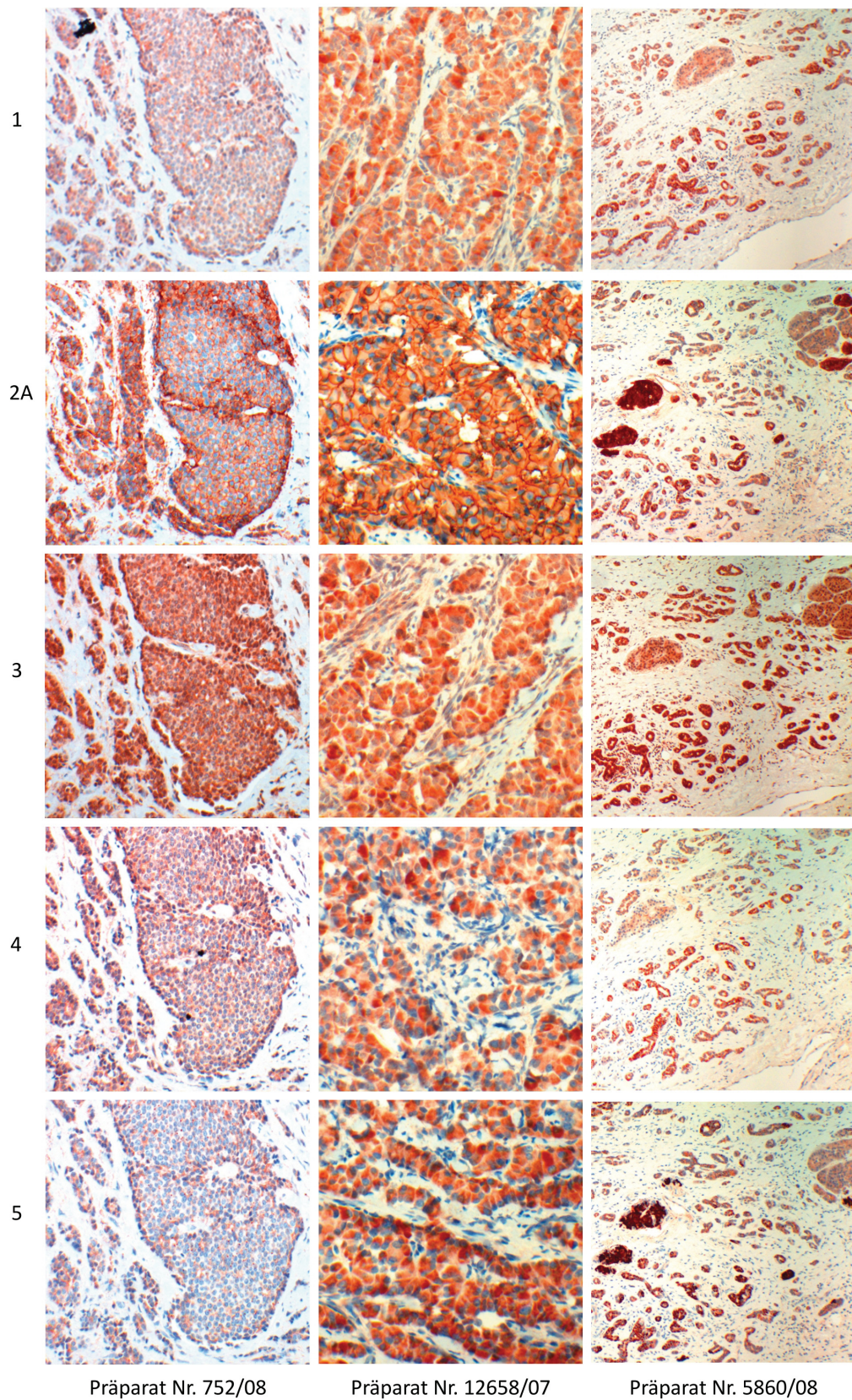


Abbildung 5.15: Gegenüberstellung der Färbintensitäten SSSTR 1 bis 5 von drei Präparaten

5.4 Molekulare Bildgebung mittels Rezeptor-PET/CT

Bei 26 der 44 Tumorproben (59,1%) war eine exakte Übereinstimmung der Tumorlokalisation mit den präoperativ mit ^{68}Ga -DOTANOC (17 Fälle) bzw. -DOTATATE (9 Fälle) erfolgten SMS-R-PET/CT-Scans und dem Operationspräparat retrospektiv nachvollziehbar. Unter Berücksichtigung des Partialvolumeneffektes für Läsionen kleiner 15 mm, konnten für die Berechnung des SUV_{max} 14 Fälle, und für SUV_{mean} , MTD und MTV 13 Fälle, der mit ^{68}Ga -DOTANOC erfolgten PET/CT-Scans einbezogen werden. Mit der Einschränkung der Berücksichtigung des Partialvolumeneffekts blieben für die Gruppe der DOTATATE-PET/CT-Scans nur 3 Fälle übrig. Die Auswertung dieser Gruppe wurde daraufhin verworfen. Die Werte für den SUV_{max} lagen zwischen 5,7 und 33,7 und für den SUV_{mean} zwischen 3,4 und 21,0. Die kleinste gemessene und mit einbezogene Tumorerläsion hatte eine Größe von 20 mm, die größte lag bei 100 mm. Das MTV hatte eine Variationsbreite zwischen $3,8\text{ cm}^3$ und 348 cm^3 . Einen Überblick über Minimum, Maximum und Mittelwerte der einzelnen Parameter gibt die Tabelle 5.9.

	Anzahl der einbezogenen Fälle	Minimum	Maximum	Mittelwert
SUV_{max}	14	5,7	33,7	13,0
SUV_{mean}	13	3,4	21,0	8,2
MTD (mm)	13	20,0	100,0	37,3
MTV (cm^3)	13	3,8	348,0	45,2

Tabelle 5.9: Deskriptive Statistik der PET/CT-Parameter

5.5 Korrelationen

Alle Tests und Auswertungen wurden mit SPSS 15.0 ausgeführt. Der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest ergab für folgende Variablen eine Normalverteilung: Gewicht, BMI, Alter, IRS des SSTR 1, 3 und 5, SUV_{max} und SUV_{mean} . Alle anderen Variablen zeigten Abweichungen von der Normalverteilung. Die sich daraus ergebenden Tests waren: Kruskal-Wallis-Test, Chi²-Test bzw. exakter Test nach Fischer, Ordinalmaß Kendall-Tau-c für die Stärke der Zusammenhänge und für nicht lineare Zusammenhänge Korrelationen nach Spearman. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als signifikant betrachtet.

5.5.1 Immunhistochemie und klinische Angaben

Für die Korrelation der immunhistochemischen Scores mit den klinischen Angaben wurde für die Parameter *Grading*, *funktioneller Status* und *Karnofsky-Index* eine Subanalyse nach Primärtumor-Präparaten und Metastasen-Präparaten (MTS-Präparate) durchgeführt. Die Scores für Patienten mit mehreren MTS-Präparaten wurden gemittelt. Die Korrelation der immunhistochemischen Scores mit dem Vorhandensein von Leber-MTS erfolgte dementsprechend nur mit der Gruppe der Primärtumore. Eine Aufschlüsselung der Fallzahlen ist in Abb. 5.16 dargestellt.

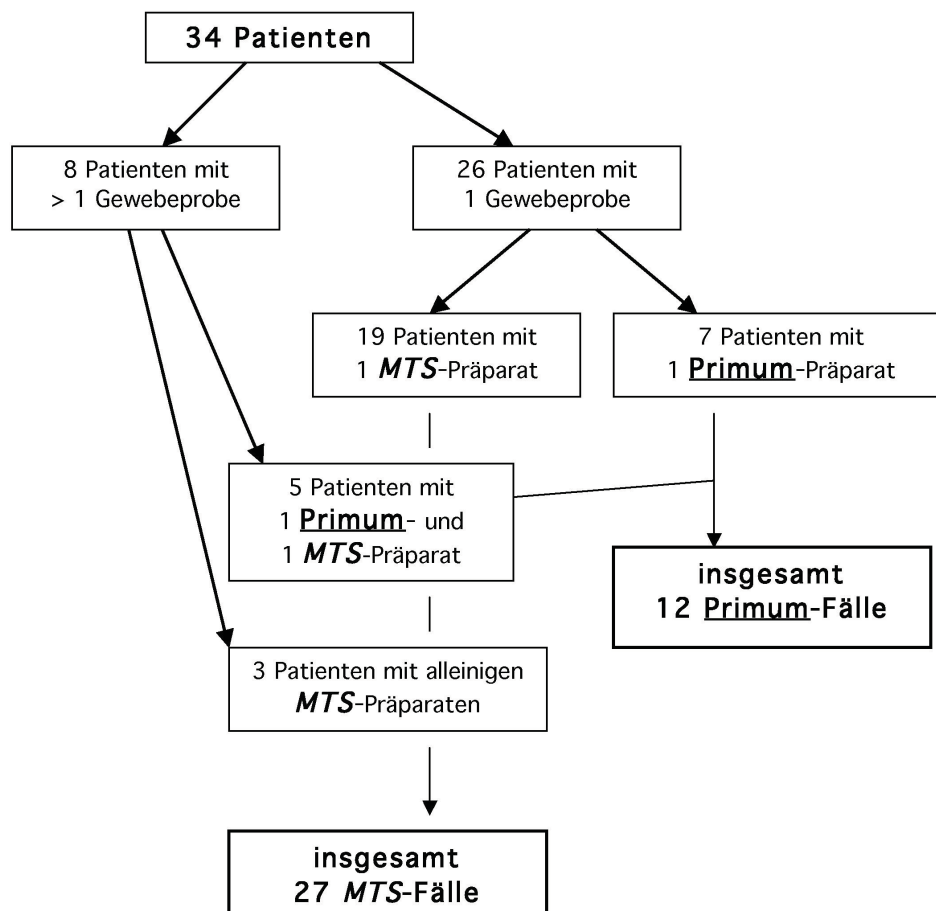


Abbildung 5.16: Überblick über die Fallzahlen der Primum- und MTS-Präparate

Score versus Primärtumorlokalisierung Weder für den IRS ($0,31 < p < 0,84$) noch für die IRS-Klassifikation ($0,21 < p < 0,80$) oder den Her2-Score ($0,07 < p < 0,82$) konnten im Chi²-Test signifikante Korrelationen mit der Lokalisation der Primärtumore festgestellt werden.

Score versus Grading Im exakten Test nach Fischer korrelierte die IRS-Klassifikation des SSTR 2A signifikant mit einer Stärke von -0,33 (Kendall-Tau-c, $p = 0,005$) mit dem Grading (s. Tab. 5.10). Her2-Score und IRS zeigten keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem Grading ($p = 0,2$; $p = 0,12$), genauso wie die Scores für die anderen SSTR-Subtypen (Her2: $0,14 < p < 0,97$; IRS: $0,26 < p < 0,97$).

In einer Subanalyse der Fälle, getrennt nach Primärtumor- und Metastasen-Präparaten, konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem SSTR-Status und dem Grading festgestellt werden.

Anzahl		Tumorgrading			Gesamt
		G1	G2	G3	
IRS-Klas-	1	0	3	3	6
sifika-	2	4	12	4	20
tion	3	6	12	0	18
Gesamt		10	27	7	44

exakter Test n. Fischer: Wert: 9,1; $p = 0,04$
Ordinalmaß Kendall-Tau-c: Wert: -0,33; $p = 0,005$

Tabelle 5.10: IRS-Klassifikation versus Tumorgrading für den SSTR 2A

Score versus Lebermetastasen Bei der Betrachtung der Subgruppe der Primärtumor-Präparate ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem SSTR-Status und dem Vorhandensein von Lebermetastasen.

Score versus funktioneller Status Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Funktionalität eines Tumors (funktionell aktiv oder funktionell inaktiv) und einem der Scores konnte nicht gezeigt werden.

Score versus Karnofsky-Index Weder der IRS noch der Her2-Score zeigten eine signifikante Korrelation mit dem Karnofsky-Index.

Score versus Chromogranin A Einen positiven Zusammenhang zeigten IRS, IRS-Klassifikation und Her2-Score des SSTR 2A mit der Stärke der Chromograninfärbung ($p = 0,003$; $p = 0,008$; $p = 0,002$). Die Stärke des Zusammenhangs, beschrieben durch Kendall-Tau-c, lag für den IRS bei 0,3 ($p = 0,002$), für die IRS-Klassifikation bei 0,24

($p=0,008$) und für den Her2-Score bei 0,25 ($p=0,002$) (s. Tab. 5.11). Für die anderen SSTR-Subtypen konnte kein Zusammenhang gezeigt werden (IRS: $0,09 < p < 0,50$; IRS-Klassifikation: $0,07 < p < 0,99$; Her2: $0,11 < p < 0,87$).

Anzahl	Chromograninfärbung				Gesamt
	–	schw.	+	+	
Her2-Score	1+	1	5	5	11
	2+	0	0	3	3
	3+	2	0	28	30
Gesamt		3	5	36	44
exakter Test n. Fischer: Wert: 14,57; $p=0,002$					
Ordinalmaß Kendall-Tau-c: Wert: 0,25; $p=0,002$					

Anzahl	Chromograninfärbung				Gesamt
	–	schw.	+	+	
IRS-Klassifikation	1	1	3	2	6
	2	1	2	17	20
	3	1	0	17	18
Gesamt		3	5	36	44
exakter Test n. Fischer: Wert: 10,78; $p=0,008$					
Ordinalmaß Kendall-Tau-c: Wert: 0,24; $p=0,008$					

Anzahl	Chromograninfärbung				Gesamt
	–	schw.	+	+	
IRS	2	1	1	0	2
	3	0	2	2	4
	4	0	2	3	5
	4,5	0	0	2	2
	5	1	0	0	1
	5,5	0	0	1	1
	6	0	0	10	10
	8	0	0	1	1
	9	0	0	4	4
	12	1	0	13	14
Gesamt		3	5	36	44
exakter Test n. Fischer: Wert: 29,8; $p=0,003$					
Ordinalmaß Kendall-Tau-c: Wert: 0,30; $p=0,002$					

Tabelle 5.11: Scores versus Chromograninfärbung für den SSTR 2A

IRS-Klassifikation versus Her2-Score Eine Korrelation des IRS mit dem Her2-Score erfolgte über die IRS-Klassifikation, da diese Scoresysteme vergleichbar sind. Die Scores korrelierten mit einer Stärke zwischen 0,42 für den SSTR 3 und 0,81 für den SSTR 5 (Kendall-Tau-c). Einen Überblick über die statistischen Parameter gibt Tab. 5.12.

IRS-Klassifikation vs. Her2	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5
exakter Test n. Fischer	32,70	24,96	25,87	21,19	44,86
Signifikanz p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Kendall-Tau-c	0,58	0,53	0,42	0,45	0,81
Signifikanz p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Tabelle 5.12: Statistische Parameter für den Vergleich von IRS-Klassifikation und Her2

Korrelation zwischen den Expressionsstärken der einzelnen Rezeptor-Subtypen

In einer weiteren Analyse wurde untersucht, ob es zwischen den Expressionslevels der verschiedenen Rezeptor-Subtypen innerhalb der jeweiligen Scoresysteme einen Zusammenhang gibt. Im Her2-Score korrelierte der SSTR 1-Besatz mit dem SSTR 4 signifikant mit einer Stärke von 0,46 (Kendall-Tau-c; $p < 0,001$) und mit dem SSTR 5 signifikant mit 0,41 (Kendall-Tau-c; $p < 0,001$). Außerdem konnte ein positiver Zusammenhang zwischen der Expression des SSTR 4 und der des SSTR 5 mit einer Stärke von 0,53 (Kendall-Tau-c; $p < 0,001$) gezeigt werden.

Auch in der IRS-Klassifikation korrelierte die Expressionsstärke des SSTR 1 mit der des SSTR 4 und des SSTR 5 signifikant. Die Stärke des Zusammenhangs (Kendall-Tau-c) lag für SSTR 1 und 4 bei 0,31 ($p = 0,01$) und für SSTR 1 und 5 bei 0,47 ($p < 0,001$). Ein Zusammenhang zwischen den Subtypen 4 und 5 konnte hier nicht gezeigt werden.

Beim IRS-Scor konnte nur ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Subtypen 4 und 5 mit einer Stärke von 0,29 (Kendall-Tau-c; $p = 0,002$) festgestellt werden.

5.5.2 Größenangaben in Pathologie-Befund, CT und PET/CT

Die Variablen *Größe im Pathologie-Befund*, *Größe im CT* und *Größe im PET/CT (MTD)* korrelierten nach Spearman deutlich und signifikant auf dem 0,01-Niveau. Am stärksten war der Zusammenhang zwischen den Angaben von Pathologie- und CT-Befund (s. Tab. 5.13).

Spearman-Korrelation	Pathologie-Größe vs.		CT-Größe vs.
	CT-Größe	MTD	MTD
Korrelationskoeffizient	0,95	0,77	0,73
Signifikanz p	< 0,001	< 0,001	< 0,01

Tabelle 5.13: Korrelation der Größenangaben

5.5.3 Immunhistochemie und PET/CT

Eine Korrelation (Kruskal-Wallis-Test) der immunhistochemischen Scores und der PET/CT-Daten erfolgte getrennt nach DOTANOC und DOTATATE. Unter Berücksichtigung des Partialvolumeneffekts wurden außerdem nur Fälle einbezogen, die im Pathologie- und/oder CT-Befund mit ≥ 15 mm angegeben waren. Eine Berechnung der Variablen erfolgte bei 40% der maximalen Isokontur der Tumorerläsion.

Score vs. SUV_{max} Die immunhistochemischen Scores des SSTR 1, 3 und 4 zeigten keine signifikanten Korrelationen mit der Variable SUV_{max} . Hochsignifikant im Kruskal-Wallis-Test korrelierte dagegen der SUV_{max} mit dem IRS des SSTR 2A ($p < 0,001$) und auch mit dem IRS des SSTR 5 ($p = 0,04$). Für den Her2-Score oder die IRS-Klassifikation konnte dagegen kein signifikanter Zusammenhang mit dem SUV_{max} festgestellt werden (s. Tab. 5.14). Eine Gegenüberstellung von PET/CT-Bildern und den immunhistochemischen Färbungen der zugehörigen Präparate ist in Abb. 5.17, 5.18 und 5.19 (S. 68-S. 70) dargestellt.

	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5
IRS	0,42	< 0,001	0,81	0,56	0,04
IRS-Klassifikation	0,46	0,25	0,80	0,56	0,14
Her2	0,13	0,69	0,34	0,36	0,22

Tabelle 5.14: p-Werte für die Korrelationen der Scores mit SUV_{max}

Score vs. SUV_{mean} Der SUV_{mean} zeigte keine signifikanten Korrelationen mit den Scores von SSTR 3, 4 und 5. Die p-Werte im Kruskal-Wallis-Test lagen zwischen 0,09 für den IRS des SSTR 5 und 0,9 für den IRS des SSTR 3. SUV_{mean} korrelierte jedoch signifikant ($p = 0,02$) mit dem Her2-Score des SSTR 1 und dem IRS des SSTR 2 ($p = 0,01$). Die Ergebnisse der mit den anderen Scores für diese beiden Rezeptortypen durchgeführten Analysen waren nicht signifikant (s. Tab. 5.15).

	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5
IRS	0,11	0,01	0,90	0,65	0,09
IRS-Klassifikation	0,16	0,44	0,70	0,57	0,18
Her2	0,02	0,74	0,52	0,71	0,23

Tabelle 5.15: p-Werte für die Korrelationen der Scores mit SUV_{mean}

Score vs. MTV Die Korrelation des Her2-Scores für den SSTR 1 mit dem im PET/CT berechneten MTV war signifikant ($p=0,04$). Alle anderen Scores der SSTR-Subtypen korrelierten nicht signifikant mit dem MTV (s. Tab. 5.16).

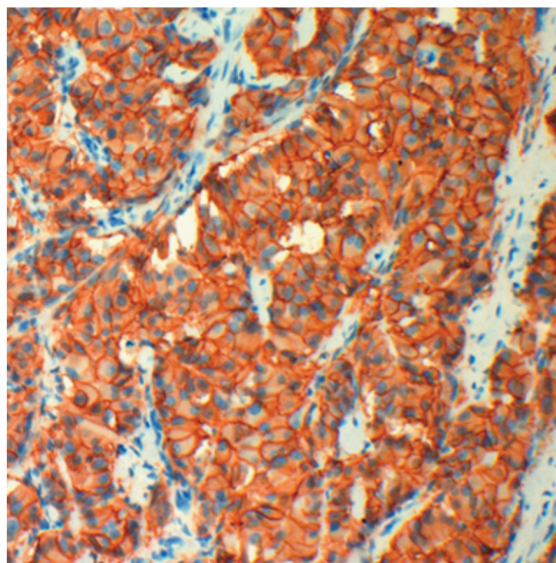
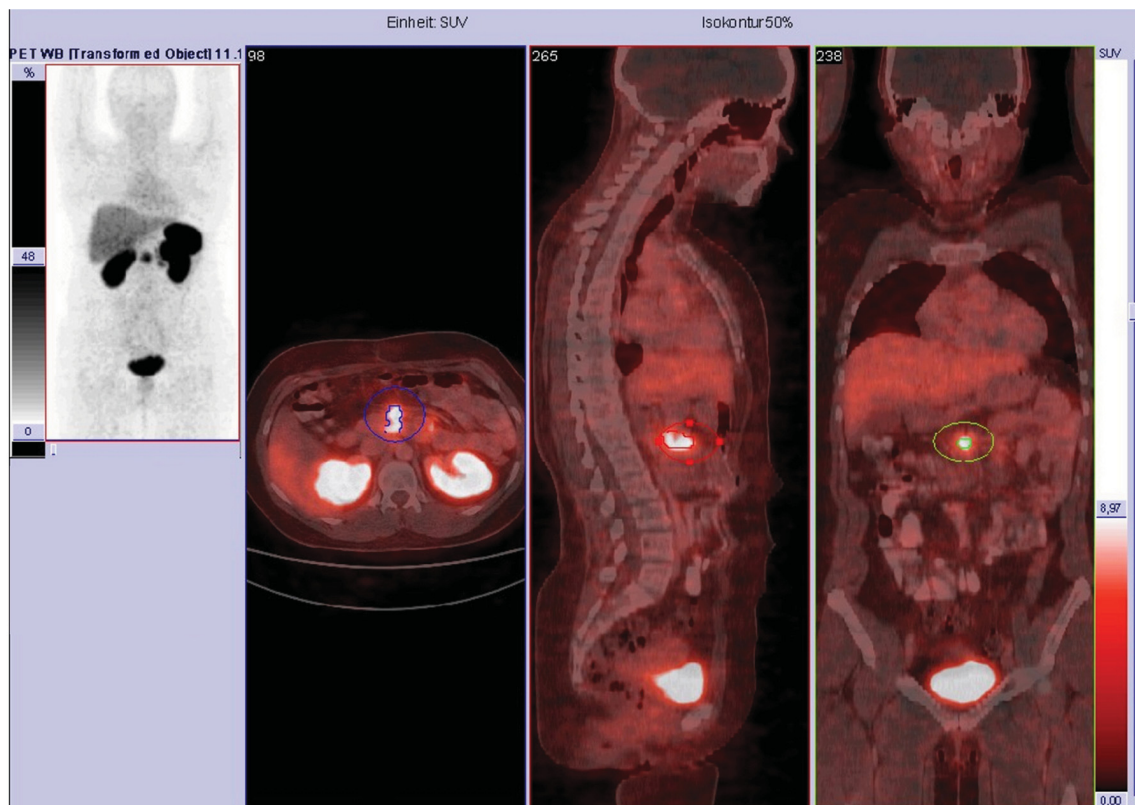
	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5
IRS	0,19	0,69	0,48	0,57	0,45
IRS-Klassifikation	0,47	0,28	0,14	0,26	0,35
Her2	0,04	0,09	0,58	0,24	0,65

Tabelle 5.16: p-Werte für die Korrelationen der Scores mit MTV

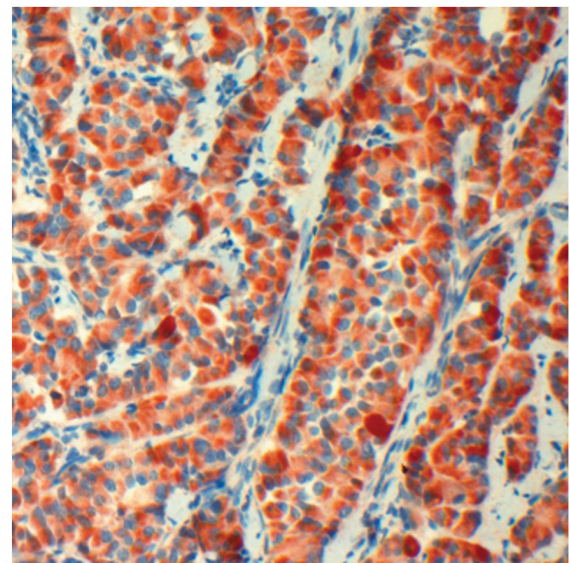
Score vs. MTD Weder der IRS, noch die IRS-Klassifikation oder der Her2-Score aller SSTR-Subtypen zeigten eine signifikante Korrelation mit dem MTD (s. Tab. 5.17).

	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5
IRS	0,39	0,81	0,83	0,61	0,54
IRS-Klassifikation	0,46	0,44	0,51	0,21	0,57
Her2	0,14	0,15	0,28	0,28	0,85

Tabelle 5.17: p-Werte für die Korrelationen der Scores mit MTD

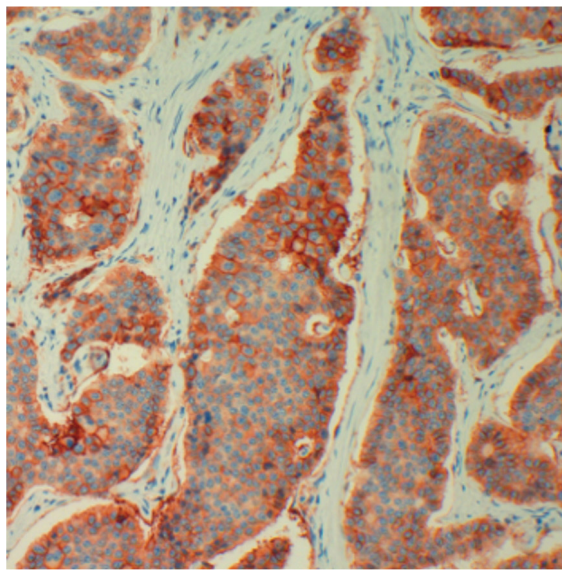
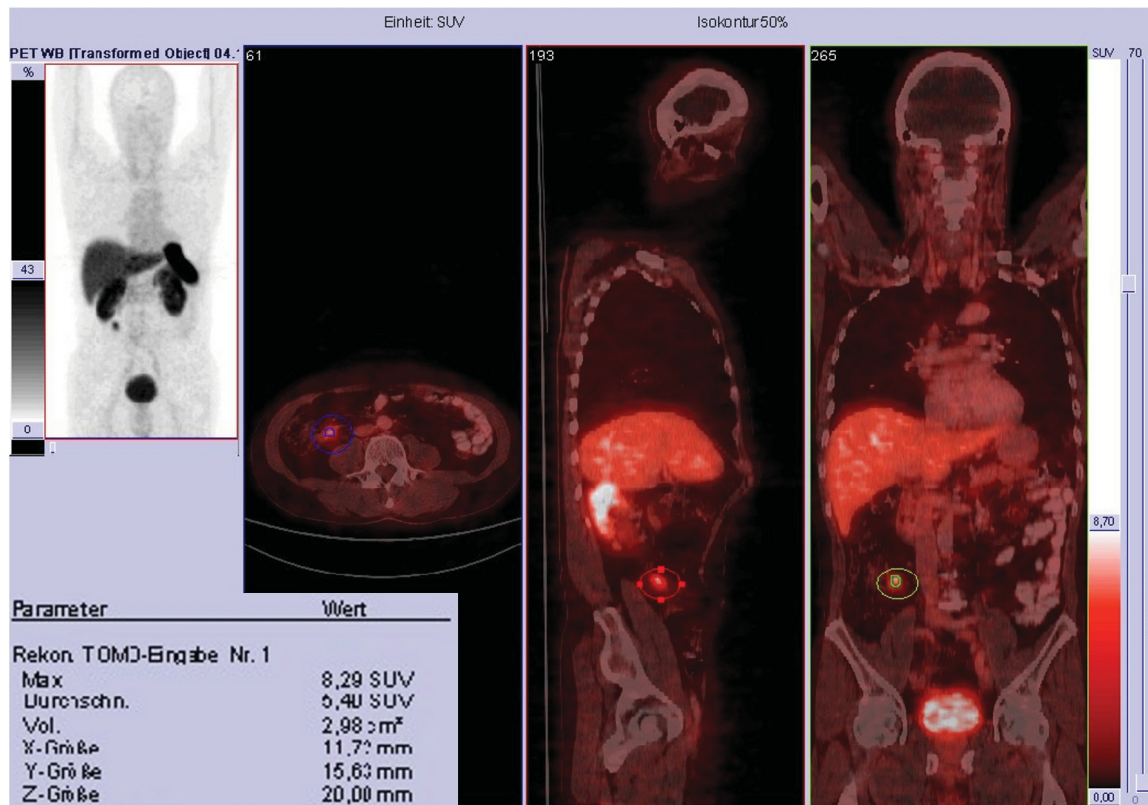


SSTR 2A-Färbung,
Präparat Nr. 12658/07; IRS = 12

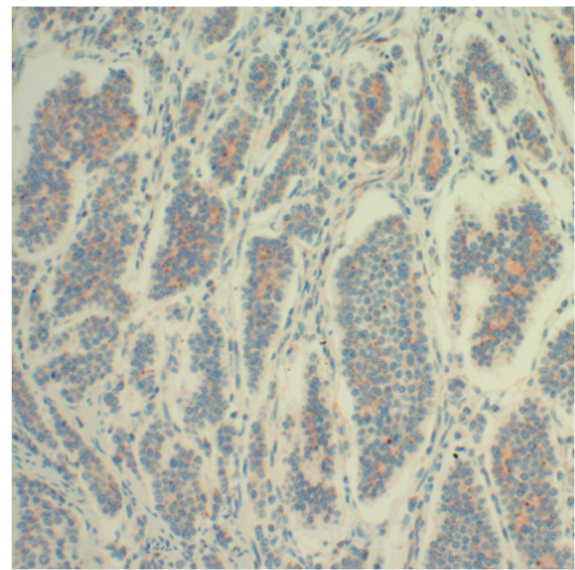


SSTR 5-Färbung,
Präparat Nr. 12658/07; IRS = 12

Abbildung 5.17: PET/CT mit hohen SUV_{max} -Werten (25,9) eines Patienten mit NET des Pankreaskopfes und die zugehörigen immunhistochemischen Färbungen der entsprechenden operativen Präparate zum Nachweis des SSTR 2A und des SSTR 5

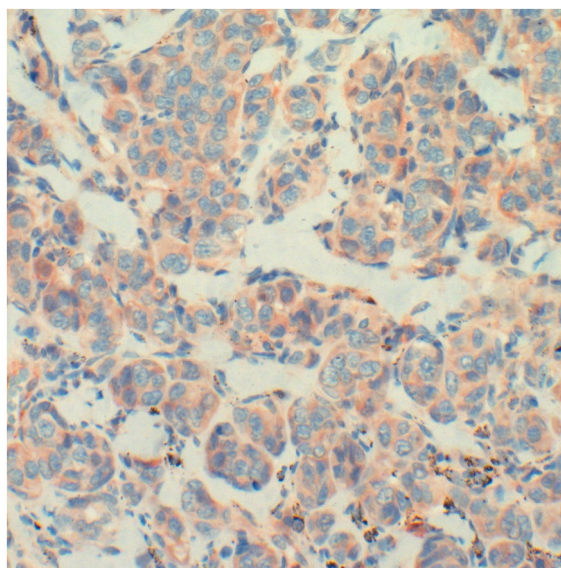
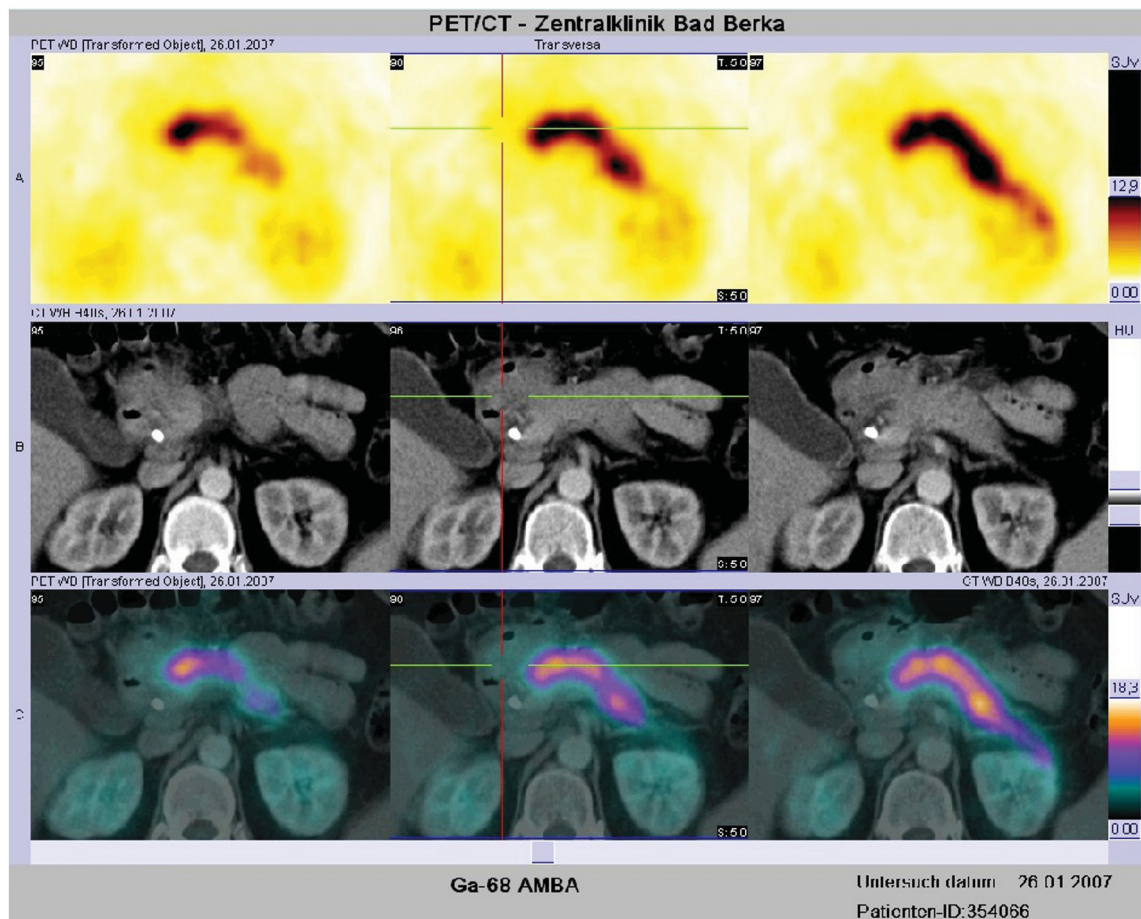


SSTR 2A-Färbung,
Präparat Nr. 11591/07; IRS = 4,5

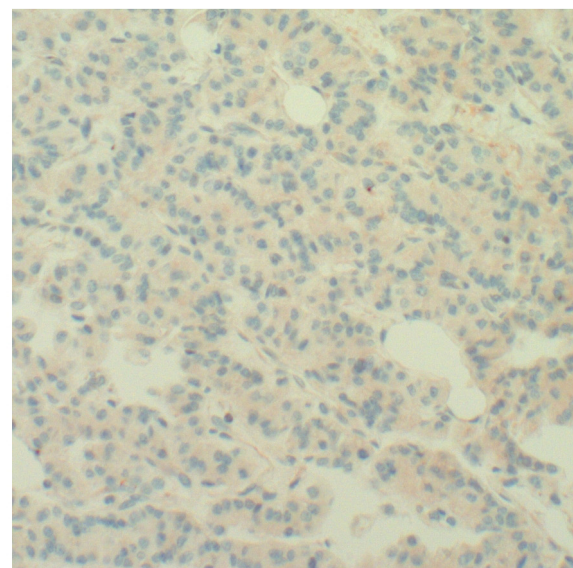


SSTR 5-Färbung,
Präparat Nr. 11591/07; IRS = 2

Abbildung 5.18: PET/CT mit **mittleren** SUV_{max} -Werten (8,3) eines Patienten mit NET des terminalen Ileum und die zugehörigen immunhistochemischen Färbungen der entsprechenden operativen Präparate zum Nachweis des SSTR 2A und des SSTR 5



SSTR 2A-Färbung,
Präparat Nr. 1257/07; IRS = 3



SSTR 5-Färbung,
Präparat Nr. 1257/07; IRS = 1

Abbildung 5.19: PET/CT mit **niedrigen** SUV_{max} -Werten (7,5) eines Patienten mit NET des Pankreaskopfes und die zugehörigen immunhistochemischen Färbungen der entsprechenden operativen Präparate zum Nachweis des SSTR 2A und des SSTR 5

6 Diskussion

Die vorliegende Untersuchung sollte die Frage klären, ob eine Korrelation besteht zwischen der immunhistochemisch an operativ gewonnenem Tumorgewebe bestimmten Intensität der Expression der fünf SSTR-Subtypen und der im SMS-R-PET/CT anhand von SUV-Werten gemessenen SSTR-Dichte auf diesen Tumoren bzw. Metastasen.

44 Gewebeproben von 34 Patienten mit histologisch gesicherten GEP-NET der Zentralklinik Bad Berka konnten auf alle fünf SSTR-Subtypen immunhistochemisch mit spezifischen Antikörpern untersucht werden (s. Abb. 5.1 auf S. 44). Erstmals war eine Korrelation zwischen dem Expressionsmuster aller SSTR-Subtypen mit SUV-Bestimmungen im SMS-R-PET/CT möglich. Neben den immunhistochemischen Scores (IRS und Her2) wurden die PET/CT-Parameter SUV_{max} , SUV_{mean} , MTD und MTV bestimmt und ausgewählte klinische Angaben wie Grading, Tumorgroße oder das Vorhandensein von Lebermetastasen in die Auswertung mit einbezogen.

6.1 Häufigkeiten der SSTR-Subtypen

In der immunhistochemischen Auswertung dominierte die SSTR 2A- und SSTR 3-Expression mit 70 - 88% der Fälle in beiden Scores (s. Abb. 5.12, S. 53 und Tab. 5.3, S. 53). Die SSTR-Subtypen 1, 4 und 5 fanden sich in 45% und 55% der Proben. Während die Subtypen 1 und 3-5 eine zytoplasmatische Färbung zeigten, ging der SSTR 2A vor allem mit einer membranständigen Immunreaktion einher (s. Abb. 5.13 auf S. 58).

Obwohl es bereits einige Publikationen zum Ausmaß der SSTR-Expression in menschlichen Zellen gibt, lässt sich eine genaue Beschreibung der Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen bei GEP-NET in nur wenigen Untersuchungen finden (Händel et al. 1999, Schreff et al. 2000, Mundschenk et al. 2003, Taniyama et al. 2005). Den Unterschied zwischen membranständiger und zytoplasmatischer Immunreaktion für die Subtypen 2A bzw. 1, 3 und 5 hatten schon Kulaksiz et al. (2002) beschrieben und auch Zamora et al. (2010) konnten diese Beobachtung bestätigen. Ein Auftreten von SSTR in 80 - 100% der GEP-NET war bereits in zahlreichen Studien von Reubi et al. beschrieben worden (Reubi et al. 1992, Reubi et al. 1994a, Reubi et al. 1994b). In einer immunhistochemischen Analyse zur Expression der fünf SSTR-Subtypen bei 94

Patienten mit GEP-NET von Zamora et al. (2010) dominierte der SSTR 2A mit einem Auftreten in über 80% der Fälle. Die Arbeit von Kulaksiz et al. (2002) ergab exakt den gleichen Wert wie in der vorliegenden Untersuchung (Nachweis des SSTR 2A in 86% der Proben). Die vorherrschende Expression des SSTR 2A in GEP-NET konnte demnach mit der aktuellen Analyse bestätigt werden. Überraschend ist die hohe Inzidenz des SSTR 3. Die Angaben von Papotti et al. (2002) für eine immunhistochemische Untersuchung von 15 Patienten mit GEP-NET spiegeln mit einem Nachweis des SSTR 3 in 60% der Fälle ein ähnlich hohes Auftreten dieses Rezeptortyps wieder. Kulaksiz et al. (2002) hatten mit 71% sogar einen noch höheren Anteil zeigen können. Allerdings konnten Zamora et al. (2010) nur auf eine SSTR 3-Inzidenz von 26% verweisen und auch Reubi und Waser (2003) kamen bei Ileumkarzinoiden nur zu einer SSTR 3-Expression in 15% der Fälle (s. Tab. 6.1). Bei genauer Betrachtung der Diagnosenunterteilung von Zamora et al. (2010) in pankreatische und nicht-pankreatische NET fällt jedoch der deutlich höhere SSTR 3-Rezeptorbesatz bei pankreatischen NET auf. Der hohe Anteil von neuroendokrinen Pankreastumoren in der vorliegenden Studie (35,5%) könnte deshalb eine Erklärung für die hohe SSTR 3-Inzidenz sein.

Autor	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5	Methode
Kulaksiz et al. (2002)						
Karzinoid	37%	86%	71%	-	83%	Immunhistochemie
Gastrinom	30%	100%	79%	-	76%	Immunhistochemie
Insulinom	31%	58%	78%	-	78%	Immunhistochemie
Papotti et al. (2002)						
GEP-NET	-	80%	60%	-	80%	Immunhistochemie
GEP-NET	92%	100%	54%	15%	77%	Autoradiographie
Reubi und Waser (2003)						
Ileumkarzinoid	52%	96%	15%	4%	48%	Autoradiographie
Insulinom	62%	69%	35%	4%	19%	Autoradiographie
Zamora et al. (2010)						
pankreatische	36%	76%	40%	12%	56%	Immunhistochemie
nicht-pankreatische	49%	89%	21%	28%	64%	Immunhistochemie
GEP-NET gesamt	46%	86%	26%	24%	62%	Immunhistochemie

Tabelle 6.1: Häufigkeitsverteilung der SSTR-Subtypen in GEP-NET in verschiedenen Studien (Auftreten in % der Fälle)

Auch der SSTR 4 zeigt in der vorliegenden Arbeit ein unerwartet häufiges Auftreten (50%). Dieser war in bisherigen Arbeiten nur als „kaum vorkommend ($\leq 15\%$)“ beschrieben worden (Reubi et al. 2001, Papotti et al. 2002, Reubi und Waser 2003). Dagegen entspricht die in der vorliegenden Arbeit gefundene Inzidenz des SSTR 1 (48% bzw. 50%) und des SSTR 5 (46% bzw. 52%) zwar den Befunden von Reubi und Waser (2003) und Zamora et al. (2010), Papotti et al. (2002) und Kulaksiz et al. (2002) hatten für den SSTR 5 jedoch eine viel höhere Inzidenz von 80% bzw. 83% beschrieben. Bei der Einordnung der vorliegenden Daten in bisherige Publikationen sollte allerdings die Verwendung der unterschiedlichen Methoden bedacht werden. Eine Darstellung der SSTR-Expression mittels Autoradiographie und Immunhistochemie mit bisher sehr unterschiedlichen Antikörpern gegen verschiedene Epitope der Rezeptoren ist sicher schwer vergleichbar. Dass die jeweilige Höhe der Inzidenzen der SSTR durch beide verwendeten Scores ähnlich hoch ausfiel, schließt zunächst aus, dass eines der Scoresysteme völlig ungeeignet war. Betrachtet man die Aufschlüsselung der Häufigkeitsverteilung des SSTR 3 (s. Tab. 5.6 auf S. 55) so fällt auf, dass vor allem IRS-Werte im mittleren Bereich vergeben worden waren. Der Wertebereich 3 (positiv, starke Expression) wurde im Vergleich zum SSTR 2A (40,9%) nur in einem sehr geringen Anteil der Fälle erreicht (13,6%), was eher den Ergebnissen von Reubi und Waser (2003) und Zamora (2010) entsprechen würde. Das könnte bedeuten, dass der verwendete Antikörper in dieser Arbeit wesentlich sensibler für die Detektion von mittleren Expressionen des SSTR 3 ist, als die Antikörper von Reubi und Waser (2003) und Zamora (2010). Dieses Ergebnis könnte den Schwerpunkt zukünftiger Diagnostik- und Therapieformen weiter in Richtung SSTR 3 lenken. Auf der anderen Seite könnte dieses Resultat auch für eine sehr hohe falsch positive Rate sprechen oder eine inkorrekte Festlegung des Wertes, der einen Tumor als positiv bewertet (in dieser Arbeit Bewertung des IRS/Her2 ≥ 2 , s. Kap. 4.5.1, S. 40 und Kap. 5.3.5, S. 52). Allerdings werden die von Schulz et al. entwickelten Antikörper als sehr spezifisch in der Erkennung ihrer Zielstruktur eingeschätzt (Schulz et al. 1998a, Schulz et al. 1998b, Schulz et al. 2000, Kulaksiz et al. 2002, Fischer et al. 2008).

6.2 Expressionsmuster der SSTR-Subtypen

Bei der Aufschlüsselung der Expressionsmuster ergaben sich für den IRS 16 und für den Her2-Score 22 verschiedene Arten der Subtypen-Konstellation. Im IRS war vor allem die Konstellation SSTR 2A und 3 vorhanden, bzw. SSTR 1, 2A, 3 und 5 positiv. Bei 81,8% der Fälle waren mindestens SSTR 2A und 3 immunhistochemisch nachweisbar und mindestens drei Subtypen fanden sich in 70,5% der Proben. Positiv für die SSTR-

Subtypen 1, 2A und 3 waren 43,2% der Fälle (s. Tab. 5.2 auf S. 52). Auffällig war, dass im IRS kein einziger Tumor für alle fünf Subtypen negativ war. Auch mit dem Her2-Score waren nur in 4,5% der Fälle keine SSTR nachweisbar. Hier überwog die Konstellation, bei der alle fünf Subtypen positiv waren mit 20,5%. Bei 56,8% der Proben waren mindestens SSTR 2A und 3 nachweisbar, in 31,8% der Fälle fanden sich die Subtypen 1, 2A und 3. Mindestens drei Rezeptortypen zeigten sich in 59,1% der Proben.

Die wenigen komplett negativen Fälle erscheinen zunächst wie ein Methodenfehler. Aber bereits von Papotti et al. (2002) sind 7% komplett negative Fälle beschrieben. In der immunhistochemischen Analyse von Zamora et al. (2010) waren 6% negativ für alle Subtypen und auch Reubi et al. (1994) konnten zeigen (damals noch mittels Autoradiographie und lediglich in Bezug auf die Subtypen 1-3), dass 82% der GEP-NET positiv und damit 18% negativ für SSTR sind. Außerdem zeigten Reubis Ergebnisse auch eine gleichzeitige Expression von SSTR-Subtypen. Laut Reubi et al. (1994 und 2001) können NET mindestens drei SSTR-Subtypen (1, 2 und 3) exprimieren. Nach Papotti et al. (2002) sind sogar 90% der Fälle positiv für mindestens drei Subtypen. Die Konstellation, dass nur der SSTR 1 oder nur der SSTR 3 nachweisbar ist, würde laut Reubi et al. dagegen eher selten vorkommen, was mit der vorliegenden Analyse sehr gut übereinstimmt (s. Tab. 5.1 auf S. 51). Vor allem die SSTR 1 und 2 waren in GEP-NET positiv. In der Gesamtanalyse der vorliegenden Publikationen spiegeln die vorliegenden Ergebnisse bezüglich der Konstellation der Expressionsmuster also sehr gut den bisherigen Wissensstand wieder und deuten darauf hin, dass eine effektive NET-Diagnostik und -Therapie ein breites Spektrum an SSTR-Subtypen abdecken sollte und sich nicht nur auf den vorherrschenden Rezeptortyp 2A konzentrieren darf.

6.3 Vergleich der Scores

Um eine Korrelation der verwendeten Scoresysteme IRS und Her2 zu ermöglichen, wurde die Klassifikation des IRS verwendet, da dieses Scoresystem mit dem Her2 eher vergleichbar ist (vgl. Tab. 4.2 und 4.4, S. 41 - 42). Die Scores korrelierten je nach untersuchtem Rezeptor mit unterschiedlicher Stärke (Kendall-Tau-c) zwischen 0,42 für den SSTR 3 und 0,81 für den SSTR 5 (s. Tab. 5.12, S. 65). In beiden Scores wird eine Einteilung der Färbeintensität in vier Gruppen verwendet (1= keine Färbung bis 4= starke Färbung). Für eine verlässliche Auswertung von GEP-NET stellte sich der IRS jedoch als das besser geeignete Instrument heraus, da hier im Vergleich zum Her2-Score eine zusätzliche Aufschlüsselung des Faktors *Prozentsatz positiver Zellen* erfolgt. Dadurch

kann die Heterogenität der Rezeptor-Expression innerhalb dieser Tumore besser erfasst und falsch positive Färbe-Ergebnisse/Artefakte können relativiert werden. Der IRS wird deshalb als zuverlässiger Score in der Bestimmung des SSTR-Status erachtet, während bei Verwendung des Her2-Scores Tumore die Kriterien oft nur unzureichend erfüllten und nur unbefriedigend einer Gruppe zugeordnet werden konnten.

Der Immunreaktive Score nach Remmele und Stegner (IRS) wurde bereits 1987 für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis in Mammakarzinomgewebe vorgeschlagen. Immunhistochemische Auswertungen neuroendokriner Tumore orientierten sich aber bisher meist am Auswertungsschema für den Her2-Score, bei dem 0+ bis 3+ vergeben werden können, was sicher dem Fakt geschuldet ist, dass die membranständige Färbung des SSTR 2A der Lokalisation der Immunreaktion des Her2-Rezeptors am nächsten kommt und die bisherigen immunhistochemischen Untersuchungen sich hauptsächlich auf den SSTR 2A konzentrierten. Die Verwendung eines einheitlichen Scores ist in der Literatur bisher noch nicht erkennbar. Einen Einblick in die unterschiedlichen Bewertungssysteme gibt Tab. 6.2.

In dieser Übersicht fallen die sehr variablen Kriterien für das Reaktionsmuster auf, die einen Vergleich nur schwer ermöglichen. Außerdem wird eine Differenzierung zwischen membranständiger Färbung des SSTR 2A und der zytoplasmatischen Markierung aller anderen SSTR-Subtypen deutlich. Diese Unterteilung ist durchaus sinnvoll, allerdings sollten die Bewertungsschemata differenzierter sein. Für die deutlich membranständige Färbung des SSTR 2A ist eine einfache Bewertung von 0 bis 3+ vielleicht ausreichend, die Verwendung der bisherigen Scores wird aber der großen Heterogenität der zytoplasmatischen Färbung der anderen SSTR-Subtypen nicht gerecht. Das Schema von Papotti et al. (2002) verspricht eine relativ genaue Einordnung der SSTR-Expression der Tumore. Betrachtet man dagegen die Aufschlüsselung des Bewertungsschemas von Volante et al. (2007), ist sofort ersichtlich, dass eine realistische Einschätzung der Expression der Subtypen 3 und 5 durch eine einzige quantitative Angabe zur zytoplasmatischen Markierung nur schlecht möglich ist. Die Heterogenität der Subtypen 1 und 3-5 sollte deshalb zukünftig mit einem detaillierteren Bewertungsschema, wie z.B. dem IRS, erfasst werden. Um einen einheitlichen Score zu erhalten, sollte vom Her2-Score für die Evaluation der SSTR 2A-Expression abgerückt und diese mit Hilfe des IRS ausgewertet werden.

Autor und Score	Reaktionsmuster
Papotti et al. (2002)	
–	negativ
+	< 25% der Tumorzellen positiv
++	25% - 50% der Tumorzellen positiv
+++	> 50% der Tumorzellen positiv
Volante et al. (2007) – für SSTR 2A	
0	keine Immunreaktivität
1	reine zytoplasmatische Immunreaktivität, entweder fokal oder diffus
2	Membranreaktivität < 50%, unabhängig von zytoplasmatischer Färbung
3	Membranreaktivität > 50%
Volante et al. (2007) – für SSTR 3 und 5	
positiv	> 10% zytoplasmatische Markierung
Corleto et al. (2009)	
0	nicht vorhanden
+	geringe Positivität
++	mäßige Positivität
+++	starke Positivität
Miederer et al. (2009) – Her2/neu für SSTR 2A	
0	negativ
1+	schwache partielle Membranmarkierung
2+	mäßige komplette Membranmarkierung
3+	starke komplette Membranmarkierung
Zamora et al. (2010)	
negativ	keine Rezeptorexpression
fokal positiv	< 25% markierte Zellen, heterogene Verteilung
positiv	mittlere bis hohe Dichte, > 25% markierte Zellen

Tabelle 6.2: Verschiedene Scores zur immunhistochemischen Evaluation von SSTR

6.4 Korrelation zwischen den Expressionsintensitäten der Rezeptor-Subtypen

Im Her2-Score korrelierte der SSTR 1-Besatz mit dem SSTR 4 signifikant mit einer Stärke von 0,46 (Kendall-Tau-c; $p < 0,001$) und mit dem SSTR 5 signifikant mit 0,41 (Kendall-Tau-c; $p < 0,001$). Außerdem konnte ein positiver Zusammenhang zwischen dem SSTR 4 und dem SSTR 5 mit einer Stärke von 0,53 (Kendall-Tau-c; $p < 0,001$) gezeigt werden. Auch in der IRS-Klassifikation korrelierte der SSTR 1 mit dem SSTR 4

und dem SSSTR 5 signifikant. Die Stärke des Zusammenhangs (Kendall-Tau-c) lag für SSSTR 1 und 4 bei 0,31 ($p=0,01$) und für SSSTR 1 und 5 bei 0,47 ($p<0,001$). Ein Zusammenhang zwischen den Subtypen 4 und 5 konnte hier nicht gezeigt werden. Im IRS-Score konnte nur ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Subtypen 4 und 5 mit einer Stärke von 0,29 (Kendall-Tau-c; $p=0,002$) festgestellt werden.

Da es in der Literatur nur vereinzelte Angaben zur gleichzeitigen immunhistochemischen Analyse der Expression aller fünf SSSTR-Subtypen gibt, stellt sich eine Einordnung der Ergebnisse als schwierig dar. Taniyama et al. (2005) untersuchten zwar verschiedene Gewebe mit Antikörpern gegen alle fünf Rezeptor-Subtypen, auf einen Zusammenhang zwischen den Expressionsdaten der verschiedenen Rezeptoren wurde allerdings nicht untersucht. Auch die immunhistochemische Analyse von Zamora et al. (2010) stellt zwar eine komplette Betrachtung der SSSTR-Subtypen dar, eine Korrelation zwischen den Expressionsintensitäten der verschiedenen SSSTR wurde jedoch nicht näher betrachtet, sodass für eine genaue Beurteilung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weitere gezielte immunhistochemische Analysen notwendig sind.

6.5 Chromogranin- und Synaptophysinfärbung

Chromogranin- und Synaptophysinfärbung waren in jeweils 82,4% der Tumorproben der Patienten positiv (s. Abb. 5.9, S. 49). Überraschenderweise zeigten der IRS und der Her2 des SSSTR 2A einen positiven Zusammenhang ($p<0,01$) mit der Stärke der CgA-Färbung (s. Tab. 5.11, S. 64). Eine positive CgA-Färbung ging zu 94% mit einer SSSTR 2A-Expression im Wertebereich 2 und 3 einher. Eine schwach positive CgA-Färbung ging nie mit einer als positiv gewerteten SSSTR 2A-Expression einher und Tumore mit negativer CgA-Färbung wiesen im IRS nur in einem Fall die Maximalpunktzahl auf. Dieses Präparat hatte in der Auswertung jedoch auch Schwierigkeiten bereitet, da die Tumorzellen untypischerweise sehr verstreut in der Pankreaskapsel lagen. Innerhalb des Pankreasgewebes waren keine Tumorzellen identifizierbar (s. Präparat Nr. 5860/08 in Abb. 5.15, S. 60).

Während der hohe Anteil der Tumore mit positiver CgA-Färbung gut mit den bisherigen Publikationen zu CgA-Plasmaspiegeln in GEP-NET übereinstimmt, wurde ein Zusammenhang zwischen der SSSTR 2A-Expression und der CgA-Färbung noch nicht beschrieben. Dieses Ergebnis wird jedoch nachvollziehbar, wenn man bedenkt, dass schon Reubi et al. (1990b) festgestellt hatten, dass die Intensität der Expression von SSSTR mit einem hohen Differenzierungsgrad von GEP-NET einhergeht und Stivanello et al. (2001) den signifikanten Zusammenhang zwischen gut differenzierten NET und

höheren CgA-Plasmaspiegeln nachgewiesen hatten. Allerdings sollte bedacht werden, dass die Verteilung in den einzelnen Kategorien (negativ, schwach positiv bzw. positiv für CgA) sehr ungleichmäßig ausfiel (3, 5 bzw. 36), weswegen der Test an Relevanz verlieren könnte. Sollte der CgA-SSTR 2A-Zusammenhang jedoch in weiteren Untersuchungen mit größerer Fallzahl bestätigt werden, könnten über eine routinemäßige CgA-Färbung auch Aussagen zum SSTR 2A-Rezeptorbesatz gemacht werden.

6.6 Tumorlokalisation

Am häufigsten waren Tumore im Pankreas (35,3%) und im Ileum (29,4%) vorzufinden. CUP (14,7%) und Lokalisationen wie Magen (8,8%) und Appendix (3%) waren dagegen seltener vertreten (s. Abb. 5.4, S. 46). Bei 64,7% der Patienten waren Lebermetastasen bekannt (s. Abb. 5.3 auf S. 45). Ein Zusammenhang zwischen der Primärtumorlokalisation und dem SSTR-Status konnte genausowenig festgestellt werden, wie ein signifikanter Zusammenhang zwischen SSTR-Status und dem Vorhandensein von Lebermetastasen.

Die Verteilung der Lokalisationen der Primärtumore entspricht in etwa den Angaben von Zamora et al. (2010). Dünndarm und Pankreas sind auch da die häufigsten Primärtumorlokalisationen (38% bzw. 25%), gefolgt von Appendix (9%), CUP (8%) und Magen (8%). Allerdings ist eine große Abweichung von den Inzidenzangaben der Analyse von 10.878 Karzinoiden des *Surveillance, Epidemiology and End Result* (SEER) Programmes des *National Cancer Institute* (USA) festzustellen. Die Lokalisation im Dünndarm hatte zwar auch da mit 41,8% (Ileum 19,8%, Duodenum 5,7%) die größte Inzidenz, NET im Pankreas fielen jedoch unter die 1%-Marke (Modlin et al. 2003). Dieser Unterschied lässt sich über eine Vorauswahl in peripheren Kliniken und einer entsprechenden Überweisung an das NET-Zentrum der Zentralklinik Bad Berka erklären.

Zusammenhänge zwischen dem SSTR-Status und der Tumorlokalisation waren auch von Zamora et al. (2010) oder Papotti et al. (2002) nicht festgestellt worden. Angaben zum Lebermetastasenstatus finden sich in früheren Publikationen nicht.

6.7 Grading

64,7% der 34 Patienten hatten G2-Tumore, 20,6% ein G1- und 14,7% ein G3-Grading (s. Abb. 5.6 auf S. 47). Es fand sich ein signifikanter Zusammenhang ($p=0,04$) zwischen dem Grading und der IRS-Klassifikation für den SSTR 2A (s. Tab. 5.10, S. 63).

Die Stärke des Zusammenhangs zeigte sich im Ordinalmaß Kendall-Tau-c mit -0,33 ($p=0,005$). G3-Tumore hatten damit eine niedrigere Ausprägung des SSSTR 2A als Tumore mit einem G1- oder G2-Grading. Der Differenzierungsgrad hat demnach einen Einfluss auf den SSSTR 2A-Besatz eines Tumors.

Ein ähnliches Phänomen wurde auch in anderen Studien beschrieben. Zamora et al. (2010) stellten fest, dass gut differenzierte Tumore eine höhere Dichte und eine homogenere Verteilung von SSSTR (außer SSSTR 5) haben. Eine solche Beobachtung nur für den SSSTR 2A hatten auch Buscail et al. (1996) in pankreatischen und kolorektalen Tumoren gemacht. Papotti et al. (2002) hatten ebenfalls einen inversen Zusammenhang zwischen SSSTR 2A-Expression und Tumorstadium festgestellt: schlecht differenzierte neuroendokrine Karzinome hatten einen reduzierten SSSTR-Status, 60% der schlecht differenzierten Tumore wiesen keinen oder nur einen SSSTR auf, während dies nur bei 12% der gut differenzierten der Fall war. Auch Reubi et al. (1994) beschrieben dieses Phänomen: die Mehrzahl der SSSTR-negativen Karzinoide gehörte zu einer niedrig differenzierten atypischen Kategorie dieser Tumore.

Obwohl die vorliegenden Daten die bisherigen Ergebnisse bestätigen, sollte die ungleiche Verteilung der einzelnen Grade beachtet werden, denn G2 dominierte mit 64,7% der Fälle. Eine gleichmäßigere Verteilung hätte sicher auch zu einem signifikanten Ergebnis für den Her2-Score geführt. Trotzdem bestätigen die Ergebnisse die Vermutung, dass der Verlust der SSSTR-Expression einen Wachstumsvorteil für Tumore darstellen und eine Erklärung für die therapeutische Effektlosigkeit von SMS-Analoga bei diesen Tumoren liefern könnte.

6.8 Funktioneller Status

Ein funktionell aktiver GEP-NET war nur bei 8,8% der Patienten bekannt, 91,2% der Tumore waren funktionell inaktiv (s. Abb. 5.7, S. 47). Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der biologischen Aktivität der GEP-NET und dem SSSTR-Status.

Ein solcher Zusammenhang wäre in der Diagnostik sicher sehr hilfreich, konnte aber auch in den bisherigen Studien nicht nachgewiesen werden. In den Arbeiten von Corleto et al. (2009), Zamora et al. (2010) und Papotti et al. (2002), mit einem viel größeren Anteil an funktionell aktiven Tumoren, war ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang darstellbar gewesen. Auch wenn der Umfang der Patientengruppe in der vorliegenden Arbeit sehr klein war, konnte dieses Ergebnis bestätigt werden.

6.9 SSTR-Status und PET/CT-Parameter

In 26 der 44 Fälle (59,1%) war eine exakte Übereinstimmung der Tumorlokalisation in den präoperativ mit ^{68}Ga -DOTANOC bzw. -DOTATATE erfolgten SMS-R-PET/CT-Scans und dem Operationspräparat nachvollziehbar. Unter Berücksichtigung des Partialvolumeneffektes für Läsionen kleiner als 15 mm, konnten für die Berechnung des SUV_{max} 14 Fälle und für SUV_{mean} , MTD und MTV 13 Fälle der mit ^{68}Ga -DOTANOC erfolgten PET/CT-Scans einbezogen werden. Die Werte für den SUV_{max} lagen zwischen 5,7 und 33,7 und für den SUV_{mean} zwischen 3,4 und 21,0. Die kleinste gemessene, und mit einbezogene Tumorkläsion hatte eine Größe von 20 mm, die größte lag bei 100 mm. Das MTV hatte eine Variationsbreite zwischen $3,8\text{ cm}^3$ und 348 cm^3 (s. Tab. 5.9, S. 61). Die immunhistochemischen Scores des SSTR 1, 3 und 4 zeigten keine signifikanten Korrelationen mit der Variable SUV_{max} . Hochsignifikant korrelierte dagegen der SUV_{max} und der IRS des SSTR 2A ($p < 0,001$) und auch der IRS des SSTR 5 ($p = 0,038$), nicht jedoch der Her2-Score oder die IRS-Klassifikation der beiden Subtypen. Der SUV_{mean} korrelierte signifikant ($p = 0,018$) mit dem Her2-Score des SSTR 1 und dem IRS des SSTR 2A ($p = 0,013$), zeigte jedoch keinen signifikanten Zusammenhang mit den Scores von SSTR 3, 4 und 5. Für das im PET/CT berechnete MTV fand sich eine signifikante Korrelation ($p = 0,043$) mit dem Her2-Score des SSTR 1.

Unter den bisher verfügbaren SSTR-Analoga hat das mit ^{68}Ga markierte DOTANOC das weiteste Affinitätsprofil zu den SSTR-Subtypen. Wie aus Tab. 6.3 ersichtlich ist, nähern sich die IC-50-Angaben für die SSTR 2A, 3 und 5 denen des natürlich vorkommenden Somatostatin-28 an.

Peptid	SSTR 1	SSTR 2A	SSTR 3	SSTR 4	SSTR 5
Somatostatin-28	$3,8 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,3$	$5,7 \pm 0,6$	$4,2 \pm 0,3$	$3,7 \pm 0,4$
^{68}Ga -DOTANOC	> 10.000	$1,9 \pm 0,4$	$40 \pm 5,8$	260 ± 74	$7,1 \pm 1,6$
Angaben als <i>half maximal inhibitory concentration</i> IC-50 (nmol/l)					
(modifiziert nach Antunes et al. 2007)					

Tabelle 6.3: Affinitätsprofile (IC-50) für die SSTR-Subtypen

Viele Studien haben sich mit den Affinitätsprofilen von SSTR-Analoga und PET-Tracern beschäftigt (Reubi et al. 2000a, Wild et al. 2003, Antunes et al. 2007). Eine Untersuchung zur Korrelation von immunhistochemisch festgestelltem SSTR-Besatz und den SUV-Werten ist bisher nur von Miederer et al. (2009) für den SSTR 2A

erfolgt. In dieser Studie wurden die SUV-Werte von präoperativen ^{68}Ga -DOTATOC-PET/CT-Scans von 18 NET-Patienten mit einem immunhistochemischen Score (0+ bis 3+, s. Tab. 6.2, S. 76) für den SSTR 2A korreliert. NET mit den Scorewerten 2+ und 3+ gingen mit signifikant höheren SUV-Werten einher, als NET mit 0+ bzw. 1+.

In der vorliegenden Studie korrelierte nicht nur die Expression des SSTR 2A, sondern auch die des SSTR 5 mit den SUV_{max} -Werten. Da die IC-50-Angaben von ^{68}Ga -DOTANOC für diese Rezeptor-Subtypen unter 10 nmol/l liegen, ist dieses Ergebnis gut nachvollziehbar. Trotz der niedrigen IC-50 für den SSTR 3 im Vergleich zu anderen SSTR-Analoga, scheint die Affinität (IC-50 = 40 nmol/l) noch nicht ausreichend zu sein, um einen Effekt im PET/CT zu erreichen. Wie in der Untersuchung von Miederer et al. (2009) korrelierte auch der SUV_{mean} mit dem Score (IRS) des SSTR 2A. Für den IRS des SSTR 5 konnte jedoch kein Zusammenhang hergestellt werden. Erstaunlich erscheint die Korrelation zwischen Her2-Score des SSTR 1 und dem SUV_{mean} . Nach den IC-50-Angaben ist die Affinität von ^{68}Ga -DOTANOC zum SSTR 1 viel zu gering (IC-50 > 10.000 nmol/l), sodass ein Zusammenhang mit SUV-Werten unwahrscheinlich erscheint. Wenn man dieses Ergebnis als gültig erachten würde, dann stellt sich die Frage, warum es keinen Zusammenhang mit dem SUV_{max} gibt. Das gleiche gilt für die Korrelation mit den MTV-Werten. Ein Zusammenhang zwischen SSTR 1-Status und SUV_{max} , SUV_{mean} und MTV ist zwar bisher noch nicht untersucht worden, erscheint aber im Hinblick auf die ungleiche Verteilung der Scorepunkte im IRS und im Her2 (s. Tab. 5.4, S. 54) unwahrscheinlich. Die hohe Anzahl an Tumoren mit Scorepunkten im Grenzbereich zu einer positiven Bewertung ($\text{IRS} \geq 4$, IRS-Klassifikation bzw. $\text{Her2} \geq 2$) könnte eine Erklärung liefern (s. auch Abschnitt in 6.1, S. 73). Eine genaue Aussage ist wegen der geringen Fallzahl jedoch nicht möglich. Andererseits haben schon Kölby et al. (1998) in einer kleinen Studie mit 6 Patienten mit Karzinoiden und 3 Patienten mit medullären Thymus-Karzinomen (MTC) festgestellt, dass ein Tumor mit negativem SSTR 2A-Status trotzdem in einer ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-Octreotid-Szintigraphie (hohe Affinität zum SSTR 2A) dargestellt wurde. Kölby et al. konnten zeigen, dass die Karzinoide alle Subtypen exprimierten, bei den MTCs eine SSTR 2A-Expression aber fehlte. Diese Tumore waren jedoch trotzdem in der Octreotid-Szintigraphie positiv, was bedeuten würde, dass der SSTR 2A-Status nicht ausschlaggebend für die Darstellung mit ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-Octreotid ist. Ein ähnliches Phänomen, das z.B. durch Internalisierungsprozesse erklärt werden könnte, würde sich dann für den SSTR 1 andeuten.

7 Schlussfolgerungen

Diese Arbeit gibt Hinweise für ein differentielles, individual-spezifisches SSTR-Expressionsmuster von GEP-NET mit variabler Dichte und Intensität. Mit über 15 verschiedenen Konstellationen ist die Bandbreite der Expressionsmuster von SSTR sehr groß. Die Inzidenz aller Subtypen von über 45% (bis 86% für den SSTR2A) und der Fakt, dass nur bei weniger als 5% der Tumore kein einziger SSTR-Subtyp nachweisbar war, zeigen die Bedeutung der SSTR für Diagnostik und Therapie von GEP-NET. Die hohen Inzidenzen von SSTR3 und 4 geben Anlass zum Überdenken der bisherigen Prinzipien für Diagnostik und Therapie von GEP-NET, die sich hauptsächlich auf den SSTR2A konzentrieren. In weiteren Untersuchungen sollten außerdem spezifische Expressionsmuster mit dem Therapieansprechen korreliert werden, um so frühzeitig eine Selektion von Patienten mit geeignetem Rezeptorprofil über eine immunhistochemische Untersuchung zu erreichen, die von einer Therapie mit SMS-Analoga profitieren könnten.

Die gleichzeitige Verwendung der immunhistochemischen Scores IRS und Her2 ermöglichte eine Aussage zur Eignung der Scores und einen Vergleich, der zu Gunsten des IRS ausfiel. Dieser Score wurde in der Auswertung der neuroendokrinen Tumorpräparate als sehr zuverlässig empfunden, da er nicht nur die Färbeintensität in vier Kategorien bewertet, sondern auch eine zusätzliche Aufschlüsselung des Faktors *Prozentsatz positiver Zellen* erfolgt. Dadurch kann die Heterogenität in der Färbung innerhalb dieser Tumore besser erfasst und falsch positive Färbe-Ergebnisse/Artefakte relativiert werden. Der IRS wurde deshalb als gut geeignetes Instrument in der Bestimmung des SSTR-Status empfunden, während beim Her2-Score oft der Fall eintrat, dass Tumore die Kriterien nur unzureichend erfüllten und nur unbefriedigend einer Gruppe zugeordnet werden konnten. Um einen Vergleich von wissenschaftlichen Ergebnissen zum SSTR-Status zu ermöglichen und die unzureichende Datenlage damit zu verbessern, sollte ein einheitlicher Score verwendet werden, welcher nicht nur die unterschiedlichen Lokalisationen der Immunreaktion mit einbezieht (SSTR2A v.a. membranständig), sondern auch der Heterogenität der zytoplasmatischen Reaktion der Subtypen 1 und 3-5 gerecht wird.

In der vorliegenden Untersuchung konnte ein positiver Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein der SSTR-Subtypen 1 und 4, 1 und 5 sowie 4 und 5 nachgewiesen

werden. Da es bis zu diesem Zeitpunkt noch keine immunhistochemischen Analysen zu diesem Zusammenhang gibt, ist eine zuverlässige Bewertung dieser Ergebnisse nur schwer möglich und sollte deshalb weiter untersucht werden.

Auch eine Korrelation zwischen CgA-Färbung und SSTR 2A-Expression war bisher noch nicht nachgewiesen worden, lässt sich aber gut mit der derzeitigen Datenlage in Übereinstimmung bringen. Sollte der CgA-SSTR 2A-Zusammenhang in weiteren Untersuchungen mit größerer Fallzahl bestätigt werden, könnten über eine routinemäßige CgA-Färbung möglicherweise auch Aussagen zum SSTR 2A-Rezeptorbesatz gemacht werden.

Die vorliegende Analyse bestätigt, dass die Tumorlokalisation keinen Einfluss auf das SSTR-Profil hat und auch kein Zusammenhang zwischen dem funktionellen und dem SSTR-Status besteht.

Das in vielen Arbeiten beschriebene Phänomen des inversen Zusammenhangs zwischen dem Differenzierungsgrad und der Rezeptorexpression konnte in dieser Untersuchung für das Grading und den SSTR 2A-Besatz belegt werden. Der Differenzierungsgrad hat demnach einen Einfluss auf den SSTR 2A-Status eines Tumors. Die Ergebnisse bestätigen damit die Vermutung, dass der Verlust der SSTR-Expression einen Wachstumsvorteil für Tumore darstellt und liefert eine Erklärung für den fehlenden therapeutischen Effekt von SMS-Analoga bei diesen Tumoren.

Der hochsignifikante Zusammenhang zwischen den SSTR-Subtypen 2A und 5 und den SUV_{max} -Bestimmungen im ^{68}Ga -DOTANOC-PET/CT lässt sich gut mit dem Affinitätsprofil von ^{68}Ga -DOTANOC zu den SSTR-Subtypen erklären und verdeutlicht die hervorragende Eignung dieses SMS-Analogons für die NET-Diagnostik.

Literaturverzeichnis

- Ackerström G, Hellmann P. 2007. Surgery on neuroendocrine tumours. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 21(1):87–109.
- Adams S, Baum R, Hertel A. 1998a. Intraoperative gamma probe detection of neuroendocrine tumors. *J Nucl Med*, 39:1155–1160.
- Adams S, Baum R, Hertel A, Schumm-Dräger P, Usadel KH, Hör G. 1998b. Metabolic (PET) and receptor (SPECT) imaging of well- and less well-differentiated tumours: Comparison with the expression of Ki-67 antigen. *Nucl Med Commun*, 19:641–647.
- Adams S, Baum R, Rink T, Schumm-Dräger PM, Usadel KH, Hör G. 1998c. Limited value of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the imaging of neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med*, 25:79–83.
- Ambrosini V, Tomassetti P, Castellucci P, Campana D, Montini G, Rubello D, Nanni C, Rizzello A, Franchi R, Fanti S. 2008. Comparison between ^{68}Ga -DOTA-NOC and ^{18}F -DOPA PET for the detection of gastro-entero-pancreatic and lung neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 35:1431–1438.
- Amthauer H, Ruf J, Rösch T, Rieke J. 2004. Bildgebung bei Neuroendokrinen Tumoren – Ultraschall-, CT- und MRT-Diagnostik. *Onkologe*, 10:588–597.
- Anderson MA, Carpenter S, Thompson NW, Nostrant TT, Elta GH, Scheiman JM. 2000. Endoscopic ultrasound is highly accurate and directs management in patients with neuroendocrine tumors of the pancreas. *Am J Gastroenterol*, 95(9):2271–2277.
- Anthony LB, Woltering EA, Espenan GD, Cronin MD, Maloney TJ, McCarthy KE. 2002. Indium-111-Pentetreotide prolongs survival in gastroenteropancreatic malignancies. *Sem Nucl Med*, 32(2):123–132.
- Antunes P, Ginj M, Zhang H, Waser B, Baum RP, Reubi JC, Maecke H. 2007. Are radiogallium-labelled DOTA-conjugated somatostatin analogues superior to those labelled with other radiometals? *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 34:982–993.

- Ardill JES. 2008. Circulating markers for endocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract. *Ann Clin Biochem*, 45:539–559.
- Arnold R. 1997. Das Carcinoid – eine in Frage gestellte Entität? *Chirurg*, 68:132–135.
- Arnold R. 2005. Introduction: Definition, historical aspects, classification, staging, prognosis and therapeutic options. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 19(4):491–505.
- Arnold R, Badihian T, Krusche S, Brabant G. 2004. Neuroendokrine Tumoren – Klinik, biochemische Diagnostik und natürlicher Verlauf. *Onkologe*, 10:560–569.
- Arnold R, Simon B, Wied M. 2000. Treatment of neuroendocrine GEP tumours with somatostatin analogues. *Digestion*, 62 (suppl 1):84–91.
- Baum R, Hofmann M. 2004. Nuklearmedizinische Diagnostik neuroendokriner Tumoren. *Onkologe*, 10:598–610.
- Baum R, Söldner J, Schmücking M, Niesen A. 2004. Peptidrezeptorvermittelte Radiotherapie (PRRT) neuroendokriner Tumoren. Klinische Indikationen und Erfahrung mit ^{90}Y trium-markierten Somatostatinanaloge. *Onkologe*, 10:1098–1110.
- Baum RP. 2007. Rezeptor-PET/CT von Somatostatinrezeptor-positiven Tumoren mit ^{68}Ga -markierten Peptiden. In: Krause B, Buck A, Schwaiger M, Hrsg. *Nuklearmedizinische Onkologie*. Erste Aufl, Kap 2.1.13. Heidelberg: Verlagsgruppe Hühig Jehle Rehm, 311–329.
- Beer AJ, Schwaiger M. 2007. Molekulare Bildgebung mit neuen PET-Tracern. *Radiologie*, 47:8–17.
- Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, Guillemin R. 1973. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 179:77–79.
- Brown DC, Gatter KC. 2002. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology*, 40:2–11.
- Buscail L, Saint-Laurent N, Chastre E, Vaillant J, Gespach C, Capella G, Kalthoff H, Lluís F, Vaysse N, Susini C. 1996. Loss of sst2 somatostatin receptor gene expression in human pancreatic and colorectal cancer. *Cancer Res*, 56:1823–1827.
- Chinol M, Bodei L, Cremonesi M, Paganelli G. 2002. Receptor-mediated radiotherapy with ^{90}Y -DOTA-Phe¹-Tyr³-octreotide: The experience of the European Institute of Oncology Group. *Sem Nucl Med*, 32:141–147.

- Corleto VD, Falconi M, Panzuto F, Milione M, Luca OD, Perri P, Cannizzaro R, Bordi C, Pederzoli P, Scarpa A, Fave GD. 2009. Somatostatin receptor subtypes 2 and 5 are associated with better survival in well-differentiated endocrine carcinomas. *Neuroendocrinology*, 89:223–230.
- Costa F, Domenichini E, Garavito G, Medrano R, Mendez G, O'Connor J, Rojas W, Torres S, Younes R, Fave GD, Öberg K. 2008. Management of neuroendocrine tumors: A meeting of experts from Latin America. *Neuroendocrinology*, 88:235–242.
- Creutzfeldt W. 1996. Carcinoid Tumors – development of our knowledge. *World J Surg*, 20:126–131.
- Eriksson B, Öberg K, Stridsberg M. 2000. Tumor markers in neuroendocrine tumors. *Digestion*, 62 (suppl 1):33–38.
- Faiss S, Pape UF, Böhmig M, Dörffel Y, Mansmann U, Golder W, Riecken EO, Wiedenmann B. 2003. Prospective, randomized, multicenter trial on the antiproliferative effect of lanreotide, interferon alfa, and their combination for therapy of metastatic neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors – the international lanreotide and interferon alfa study group. *J Clin Oncol*, 21:2689–2696.
- Faiss S, Räth U, Mansmann U, Caird D, Clemens N, Riecken EO, Wiedenmann B. 1999. Ultra-high-dose lanreotide treatment in patients with metastatic neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors. *Digestion*, 60:469–476.
- Fendrich V, Bartsch D, Langer P, Zielke A, Rothmund M. 2004. Diagnostik und operative Therapie beim Insulinom – Erfahrungen bei 40 Patienten. *Dtsch Med Wochenschr*, 129:941–946.
- Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. 2008. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab*, 93:4519–4524.
- Forrer F. 2008. Zielgerichtete, rezeptorvermittelte Radionuklidtherapie (Radiopeptidtherapie) neuroendokriner Tumoren. *Nuklearmedizin*, 31:114–131.
- Forrer F, Uusijärvi H, Storch D, Maecke HR, Mueller-Brand J. 2005. Treatment with ^{177}Lu -DOTATOC of patients with relapse of neuroendocrine tumors after treatment with ^{90}Y -DOTATOC. *J Nucl Med*, 46:1310–1316.

- Gabriel M, Decristoforo C, Kendler D, Dobrozemsky G, Heute D, Uprimny C, Kovacs P, Guggenberg EV, Bale R, Virgolini IJ. 2007. ^{68}Ga -DOTA-Tyr³-octreotide PET in neuroendocrine tumors: comparison with somatostatin receptor scintigraphy and CT. *J Nucl Med*, 48:508–518.
- Gimm O, Dralle H. 2004. Chirurgische Therapie neuroendokriner Tumoren von Pankreas, Magen und Duodenum. *Onkologe*, 10:1042–1053.
- Ginj M, Zhang H, Waser B, Cescato R, Wild D, Wang X, Erchegyi J, Rivier J, Mäcke HR, Reubi JC. 2006. Radiolabeled somatostatin receptor antagonists are preferable to agonists for in vivo peptide receptor targeting of tumors. *PNAS*, 103(44):16436–16441.
- Gulec SA. 2007. PET probe-guided surgery. *J Surg Oncol*, 96:353–357.
- Händel M, Schulz S, Stranarius A, Schreff M, Erdtmann-Vourliotis M, Schmidt H, Wolf G, Höllt V. 1999. Selective targeting of somatostatin receptor 3 to neuronal cilia. *Neuroscience*, 89(3):909–926.
- Haren RMV, Fitzgerald TL. 2008. Intraoperative hand held gamma probe detection of a recurrent nonfunctional neuroendocrine tumor. *J Pancreas*, 9(6):704–707.
- Hellman P, Lundström T, Öhrvall U, Eriksson B, Skogseid B, Öberg K, Janson ET, Akerström G. 2002. Effect of surgery on the outcome of midgut carcinoid disease with lymph node and liver metastases. *World J Surg*, 26:991–997.
- Hemminki K, Li X. 2001. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors. *Cancer*, 92(8):2204–2210.
- Hittmair A, Schmid KW. 1989. Inhibition of endogenous peroxidase for the immunocytochemical demonstration of intermediate filament proteins (IFP). *J Immunol Methods*, 116:199–205.
- Hofmann M, Maecke H, Börner A, Weckesser E, Schöffski P, Oei M, Schumacher J, Henze M, Heppeler A, Meyer G, Knapp W. 2001. Biokinetics and imaging with the somatostatin receptor PET radioligand ^{68}Ga -DOTATOC: preliminary data. *Eur J Nucl Med*, 28(12):1751–1757.
- Klöppel G. 2003. Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltrakts. *Pathologe*, 24:287–296.
- Klöppel G. 2007a. Oberndorfer and his successors: from carcinoid to neuroendocrine carcinoma. *Endocr Pathol*, 18:141–144.

- Klöppel G. 2007b. Site-specific biology and pathology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Virchows Arch*, 45 (suppl 1):9–27.
- Klöppel G. 2007c. Tumour biology and histopathology of neuroendocrine tumours. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 21(1):15–31.
- Klöppel G, Anlauf M, Lüttges J. 2004. Klassifikation und Pathologie der neuroendokrinen Tumoren des Magen-Darm-Trakts und Pankreas. *Onkologe*, 10:570–579.
- Kölby L, Wängberg B, Ahlman H, Tisell LE, Fjälling M, Forssell-Aronsson E, Nilsson O. 1998. Somatostatin receptor subtypes, octreotide scintigraphy and clinical response to octreotide treatment in patients with neuroendocrine tumors. *World J Surg*, 22:679–683.
- Kress O, Klose KJ, Wagner HJ. 2004. Lokal-ablative Therapieverfahren neuroendokriner Lebermetastasen. *Onkologe*, 10:1079–1091.
- Kulaksiz H, Eissele R, Rössler D, Schulz S, Höllt V, Cetin Y, Arnold R. 2002. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut*, 50:52–60.
- Kwekkeboom D, Bakker W, Kam B, Teunissen J, Kooij P, Herder W, Feelders R, Eijck C, Jong M, Srinivasan A, Erion J, Krenning E. 2003. Treatment of patients with gastro-entero-pancreatic (GEP) tumours with the novel radiolabelled somatostatin analogue [^{177}Lu -DOTA 0 ,Tyr 3]octreotate. *Eur J Nucl Med*, 30:417–422.
- Kwekkeboom DJ, de Herder WW, Kam BL, van Eijck CH, van Essen M, Kooij PP, Feelders RA, van Aken MO, Krenning EP. 2008. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [^{177}Lu -DOTA 0 ,Tyr 3]Octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J Clin Oncol*, 26(13):2124–2130.
- Langhans T. 1867. Über einen Drüsenpolyp im Ileum. *Virchows Arch Pathol Anat*, 38:550–560.
- Lubarsch O. 1888. Über den primären Krebs des Ileum nebst Bemerkungen über das gleichzeitige Vorkommen von Krebs und Tuberculose. *Virchows Arch Pathol Anat*, 111:280–317.
- McCarty KJ, Miller L, Cox E, Konrath J, McCarty KS. 1985. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med*, 109:716–721.
- Miederer M, Seidl S, Buck A, Scheidhauer K, Wester HJ, Schwaiger M, Perren A. 2009. Correlation of immunohistopathological expression of somatostatin receptor

- 2 with standardised uptake values in ^{68}Ga -DOTATOC PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 36:48–52.
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. 2003. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer*, 97:934–959.
- Modlin IM, Oberg K, Chung DC, Jensen RT, de Herder WW, Thakker RV, Caplin M, Fave GD, Kaltsas GA, Krenning EP, Moss SF, Nilsson O, Rindi G, Salazar R, Ruszniewski P, Sundin A. 2008. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol*, 9:61–72.
- Modlin IM, Shapiro MD, Kidd M. 2004. Siegfried Oberndorfer: origins and perspectives of carcinoid tumors. *Hum Pathol*, 35:1440–1451.
- Modlin IM, Shapiro MD, Kidd M, Eick G. 2007. Siegfried Oberndorfer and the evolution of carcinoid disease. *Arch Surg*, 142:187–197.
- Mundschenk J, Unger N, Schulz S, Höllt V, Schulz S, Steinke R, Lehnert H. 2003. Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and functional relevance for octreotide scintigraphy. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:5150–5157.
- Nanni C, Rubello D, Fanti S. 2006. ^{18}F -Dopa PET/CT and neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 33:509–513.
- Öberg K. 2000. Interferon in the management of neuroendocrine GEP-tumors. *Digestion*, 62 (suppl 1):92–97.
- Öberg K. 2001. Chemotherapy and biotherapy in the treatment of neuroendocrine tumours. *Ann Oncol*, 12 (suppl 2):S111–S114.
- Oberndorfer S. 1907. Karzinoide Tumoren des Dünndarms. *Frankf Z Pathol*, 1:426–432.
- Paganelli G, Zoboli S, Cremonesi M, Bodei L, Ferrari M, Grana C, Bartolomei M, Orsi F, Cicco CD, Mäcke HR, Chinol M, de Braud F. 2001. Receptor-mediated radiotherapy with ^{90}Y -DOTA-Phe¹-Tyr³-octreotide. *Eur J Nucl Med*, 28:426–434.
- Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL, Bussolati G. 2002. Expression of somatostatin receptor types 1–5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors - A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch*, 440:461–475.

- Patel YC. 1999. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol*, 20:157–198.
- Pigorsch SU, Molls M, Grosu AL. 2004. Strahlentherapie neuroendokriner Tumoren. *Onkologe*, 10:1092–1097.
- Plöckinger U, Wiedenmann B. 2004a. Diagnostische Algorithmen bei neuroendokrinen Tumoren des gastroenteropankreatischen Systems. *Onkologe*, 10:634–638.
- Plöckinger U, Wiedenmann B. 2004b. Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltrakts. *Z Gastroenterol*, 42:517–526.
- Plöckinger U, Wiedenmann B. 2007. Treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Virchows Arch*, 451(suppl 1):S71–S80.
- Prasad V, Ambrosini V, Hommann M, Hoersch D, Fanti S, Baum RP. 2010. Detection of unknown primary neuroendocrine tumours (CUP-NET) using ^{68}Ga -DOTA-NOC receptor PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 37:67–77.
- Prasad V, Fetscher S, Baum RP. 2007. Changing role of somatostatin receptor targeted drugs in NET: Nuclear Medicine’s view. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 1:321–337.
- Putzer D, Gabriel M, Henninger B, Kendler D, Uprimny C, Dobrozemsky G, Decristoforo C, Bale RJ, Jaschke W, Virgolini IJ. 2009. Bone metastases in patients with neuroendocrine tumor: ^{68}Ga -DOTA-Tyr³-octreotide PET in comparison to CT and bone scintigraphy. *J Nucl Med*, 50:1214–1221.
- Ransom WB. 1890. A case of primary carcinoma of the ileum. *Lancet*, ii:1020–1023.
- Raut C. 2006. Carcinoid tumors. *Curr Probl Surg*, 43:391–450.
- Reisine T, Bell G. 1995. Molecular properties of somatostatin receptors. *Neurosci*, 67:77–790.
- Remmele W, Stegner H. 1987. Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. *Der Pathologe*, 8:138–140.
- Reubi JC. 2003. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev*, 24:389–427.
- Reubi JC. 2004. Somatostatin and other peptide receptors as tools for tumor diagnosis and treatment. *Neuroendocrinol*, 80:51–56.
- Reubi JC. 2007. Peptide receptor expression in GEP-NET. *Virchows Arch*, 451:47–50.

- Reubi JC, Krenning E, Lamberts SWJ, Kvols L. 1990a. Somatostatin receptors in malignant tissues. *J Steroid Biochem Molec Biol*, 37(6):1073–1077.
- Reubi JC, Kvols LK, Waser B, Nagorney DM, Heitz PU, Charboneau JW, Reading CC, Moertel C. 1990b. Detection of somatostatin receptors in surgical and percutaneous needle biopsy samples of carcinoids and islet cell carcinomas. *Cancer Res*, 50:5969–5977.
- Reubi JC, Laissue J, Krenning E, Lamberts SW. 1992. Somatostatin receptor in human cancer: incidence, characteristics, functional correlates and clinical implications. *J Steroid Biochem Molec Biol*, 43:27–35.
- Reubi JC, Laissue J, Waser B, Horisberger U, Schaer JC. 1994a. Expression of somatostatin receptors in normal, inflamed, and neoplastic human gastrointestinal tissues. *Ann NY Acad Sci*, 733:122–137.
- Reubi JC, Schaer JC, Waser B, Mengod G. 1994b. Expression and localization of somatostatin receptor SSTR1, SSTR2, and SSTR3 messenger RNAs in primary human tumors using in situ hybridization. *Cancer Res*, 54:3455–3459.
- Reubi JC, Schär JC, Waser B, Wenger S, Heppeler A, Schmitt JS, Mäcke HR. 2000a. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST 1–SST 5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. *Eur J Nucl Med*, 27:273–282.
- Reubi JC, Waser B. 2003. Concomitant expression of several peptide receptors in neuroendocrine tumours: molecular basis for in vivo multireceptor tumour targeting. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 30:781–793.
- Reubi JC, Waser B, Liu Q, Laissue JA, Schonbrunn A. 2000b. Subcellular distribution of somatostatin sst2A receptors in human tumors of the nervous and neuroendocrine systems: Membranous versus intracellular location. *J Clin Endocrinol Metab*, 85:3882–3891.
- Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Laissue JA. 2001. Somatostatin receptor sst1–sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med*, 28:836–846.
- Ricke J, Klose KJ, Mignon M, Öberg K, Wiedenmann B. 2001. Standardisation of imaging in neuroendocrine tumours: results of a European delphi process. *Eur J Radiol*, 37:8–17.

- Rindi G, Klöppel G, Couvelard A, Komminoth P, Korner M, Lopes J, McNicol A, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec J, Wiedenmann B. 2007. TNM staging of midgut and hindgut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*, 451:757–762.
- Rindi G, Villanacci V, Ubiali A. 2000. Biological and molecular aspects of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Digestion*, 62 (suppl 1):19–26.
- Rockall AG, Reznek RH. 2007. Imaging of neuroendocrine tumours (CT/MR/US). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 21(1):43–68.
- Rufini V, Calcagni M, Baum R. 2006. Imaging of neuroendocrine tumors. *Sem Nucl Med*, 36:228–247.
- Ruszniewski P, Malka D. 2000. Hepatic arterial chemoembolization in the management of advanced digestive endocrine tumors. *Digestion*, 62 (suppl 1):79–83.
- Scherübl H, Faiss S, Zeitz M. 2003. Neuroendokrine Tumore des Gastrointestinaltrakts: Diagnostik und Therapie. *Dtsch Med Wochenschr*, 128:81–83.
- Scholzen T, Gerdes J. 2000. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *J Cell Physiol*, 182:311–322.
- Schonbrunn A, Tashjian AH. 1978. Characterization of functional receptors for somatostatin in rat pituitary cells in culture. *J Biol Chem*, 253:6473–6483.
- Schreff M, Schulz S, Händel M, Keilhoff G, Braun H, Pereira G, Klutzny M, Schmidt H, Wolf G, Höllt V. 2000. Distribution, targeting, and internalization of the sst4 somatostatin receptor in rat brain. *J Neurosci*, 20(10):3785–3797.
- Schulz S, Händel M, Schreff M, Schmidt H, Höllt V. 2000. Localization of five somatostatin receptors in the rat central nervous system using subtype-specific antibodies. *J Physiol*, 94:259–264.
- Schulz S, Schreff M, Schmidt H, Händel M, Przewlocki R, Höllt V. 1998a. Immunocytochemical localization of somatostatin receptor sst2A in the rat spinal cord and dorsal root ganglia. *Eur J Neurosci*, 10:3700–3708.
- Schulz S, Schulz S, Schmitt J, Wiborny D, Schmidt H, Olbricht S, Weise W, Roessner A, Gramsch C, Höllt V. 1998b. Immunocytochemical detection of somatostatin receptors sst1, sst2A, sst2B, and sst3 in paraffin-embedded breast cancer tissue using subtype-specific antibodies. *Clin Cancer Res*, 4:2047–2052.

- Schupak KD, Wallner KE. 1991. The role of radiation therapy in the treatment of locally unresectable or metastatic carcinoid tumors. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*, 20:489–495.
- Shi S, Key M, Kalra K. 1991. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: An enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem*, 39(6):741–748.
- Soga J. 2009. The term carcinoid is a misnomer: the evidence based on local invasion. *J Exp Clin Cancer Res*, 28:15–21.
- Soga J, Tazawa K. 1971. Pathologic analysis of carcinoids – histologic reevaluation of 62 cases. *Cancer*, 28:990–998.
- Spitzweg C, Göke B. 2002. Therapie endokriner gastrointestinaler Tumoren. *Internist*, 43:219–229.
- Stivanello M, Berruti A, Torta M, Termine A, Tampellini M, Gorzegno G, Angeli A, Dogliotti L. 2001. Circulating chromogranin A in the assessment of patients with neuroendocrine tumors. A single institution experience. *Ann Oncol*, 12 (suppl 2):73–77.
- Taal B, Visser O. 2004. Epidemiology of neuroendocrine tumours. *Neuroendocrinol*, 80 (suppl 1):3–7.
- Taniyama Y, Suzuki T, Mikami Y, Moriya T, Satomi S, Sasano H. 2005. Systemic distribution of somatostatin receptor subtypes in human: an immunohistochemical study. *Endocr J*, 52:605–611.
- Tiling N, Ricke J, Wiedenmann B. 2002. Neuroendokrine Tumoren des gastroenteropankreatischen Systems (GEP-NET) – Klassifikation und Diagnostik. *Internist*, 43:210–218.
- Tomassetti P, Migliori M, Lalli S, Campana D, Tomassetti V, Corinaldesi R. 2001. Epidemiology, clinical features and diagnosis of gastroenteropancreatic endocrine tumours. *Ann Oncol*, 12:95–99.
- Toumpanakis C, Meyer T, Caplin ME. 2007. Cytotoxic treatment including embolization/chemoembolization for neuroendocrine tumours. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 21(1):131–144.
- Valkema R, de Jong M, Bakker WH, Breeman WA, Kooij PP, Lugtenburg PJ, de Jong FH, Christiansen A, Kam BL, de Herder WW, Stridsberg M, Lindemans J, Ensing G, Krenning EP. 2002. Phase 1 study of peptide receptor radionuclide therapy

- with ^{111}In -DTPA-Octreotide: The Rotterdam experience. *Sem Nucl Med*, 32:110–122.
- Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, Rosa SL, Rapa I, Ferrero A, Mansueto G, Righi L, Garancini S, Capella C, Rosa GD, Dogliotti L, Colao A, Papotti M. 2007. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Modern Pathology*, 20:1172–1182.
- Waldherr C, Pless M, Maecke HR, Schumacher T, Crazzolara A, Nitzsche EU, Haldermann A, Mueller-Brand J. 2002. Tumor response and clinical benefit in neuroendocrine tumors after 7.4 GBq ^{90}Y -DOTATOC. *J Nucl Med*, 43:610–616.
- Warner RR. 2005. Enteroendocrine tumors other than carcinoid: A review of clinically significant advances. *Gastroenterology*, 128:1668–1684.
- Wessels FJ, Schell SR. 2001. Radiofrequency ablation treatment of refractory carcinoid hepatic metastases. *J Surg Res*, 95:8–12.
- Wilander E. 1989. Diagnostic pathology of gastrointestinal and pancreatic neuroendocrine tumours. *Acta Oncol*, 28:363–369.
- Wild D, Schmitt JS, Ginj M, Mäcke HR, Bernard BF, Krenning E, de Jong M, Wenger S, Reubi JC. 2003. DOTA-NOC, a high-affinity ligand of somatostatin receptor subtypes 2, 3 and 5 for labelling with various radiometals. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 30:1338–1347.
- Williams E, Sandler M. 1963. The classification of carcinoid tumors. *Lancet*, 1:238–239.
- Zamora V, Cabanne A, Salanova R, Bestani C, Domenichini E, Marmissolle F, Giacomini N, O'Connor J, Méndez G, Roca E. 2010. Immunohistochemical expression of somatostatin receptors in digestive endocrine tumours. *Dig Liver Dis*, 42(3):220–225.

Anhang

Danksagung

Ich danke

- Dr. Daniel Kämmerer für die hervorragende Betreuung meiner Arbeit,
- PD Dr. Amelie Lupp für die engagierte Unterstützung des immunhistochemischen Teils,
- Dr. Sängler für die Bereitstellung der Gewebeblöcke und die Einführung in die immunhistochemische Auswertung,
- Dr. Vikas Prasad für die nuklearmedizinischen Berechnungen und Erklärungen,
- Dr. Erik Erler für die entscheidende Unterstützung in der Manuskriptarbeit,
- Stephan Peter, Kati Schöpke, Sabrina Lehré und Hannah Zipprich für die moralische Rückenstärkung.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Luisa Peter, geb. Goetze
Geburtsdatum: 16.05.1985
Geburtsort: Zwenkau b. Leipzig
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Anschrift: Friedrich-Engels-Str. 65
07749 Jena
Familienstand: verheiratet

Schulausbildung

1991 – 1995 71. Grundschule in Leipzig
1995 – 2003 Friedrich-Arnold-Brockhaus-Gymnasium Leipzig
2003 Abitur

Auslandsaufenthalt

09/2003 – 06/2004 Work & Travel Australien

Studium

seit 01.10.2004 Studium der Humanmedizin an der FSU Jena
18.09.2006 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
22.02.10 – 21.01.11 Praktisches Jahr
Erstes Tertial Anästhesie – SRH Waldklinikum Gera
Zweites Tertial Chirurgie – Thüringen-Kliniken *G. Agricola* Saalfeld
Drittes Tertial Innere Medizin – Thüringen-Kliniken *G. Agricola* Rudolstadt

Jena, den 26. Oktober 2010

Luisa Peter

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Dr. Kämmerer, PD Dr. Lupp, Dr. Prasad,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,

Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 26. Oktober 2010

Luisa Peter

Veröffentlichungen

Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit sind Inhalt folgender Kongressbeiträge und Veröffentlichungen:

Poster

Goetze L, Kämmerer D, Lupp A, Schulz S, Prasad V, Baum RP, Hommann M. Molecular imaging of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours with Ga-68-DOTANOC PET/CT and correlation with an immunohistochemical quantification of somatostatin receptor using novel monoclonal and polyclonal antibodies. 7th Annual ENETS Conference, 11.-12.3.2010, Berlin, Germany.

Vortrag

Goetze L, Kämmerer D, Lupp A, Schulz S, Prasad V, Baum RP, Hommann M. Somatostatin-receptor PET/CT for in-vivo quantification of receptor density? Correlation with immunohistochemistry using novel monoclonal and polyclonal antibodies. **Highlight lecture** at SNM's 57th Annual Meeting, 5.-9.6.2010, Salt Lake City, Utah, USA.

Goetze L, Kämmerer D, Lupp A, Schulz S, Prasad V, Baum RP, Hommann M. Immunohistochemical validation of Somatostatin-Receptor PET/CT as in-vivo method for quantification of receptor density on neuroendocrine tumors. **Highlight lecture** at the Annual Congress of EANM, 9.-13.10.2010, Vienna, Austria.

Publikation

Kämmerer D, Peter L, Lupp A, Schulz S, Sängler J, Prasad V, Baum RP, Hommann M. Molecular imaging of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours with Ga-68-DOTANOC PET/CT and correlation with an immunohistochemical quantification of somatostatin receptor using novel monoclonal and polyclonal antibodies. J Nucl Med. (submitted)